ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1980 THESE : 74

MORPHINIQUES ET ENDORPHINES

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1980
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

PAR

Martin, Georges, Alain VIOLLET DU BREIL
Né le 29 avril 1954 à New York

MEMBRES DU JURY

Président : .....CROS
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : .....RUCKEBUSCH
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

GUELFI
Professeur à l'Ecole nationale Vétérinaire de Toulouse

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0043

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1980 THESE : 74

MORPHINIQUES ET ENDORPHINES

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1980
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

PAR

Martin, Georges, Alain VIOLLET DU BREIL
Né le 29 avril 1954 à New York

MEMBRES DU JURY

Président : .....CROS
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : .....RUCKEBUSCH
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

GUELFI
Professeur à l'Ecole nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeurs honoraires	MM. PONS FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD BERTHELON SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	M. GODFRAIN
Professeur sans chaire	Mme BURGAT-SACAZE
Maître Assistant Agrégé	M. PUYT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	M. RICO
Professeur sans chaire	M. BRAUN
Maître Assistant	M. BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	M. PAVAUX
Maître Assistant	M. LIGNEREUX
Maître Assistant	M. SAUTET

Anatomie Descriptive - Extérieur - Anatomie Appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé	M. TOUTAIN

Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans Chaire	M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé	M. MAGNOL

Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	M. LABIE
Maître de Conférences	M. EECKHOUTTE
Maître Assistant	Mme BENARD

Hygiène - Inspection - Contrôle et Technologie
des denrées alimentaires d'origine animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	M. DORCHIES
Maître Assistant Agrégé	M. FRANC
Maître Assistant	M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire	M. LESCURE
Maître de Conférences	M. GUELFI

Sémiologie et pathologie médicale des équidés et carnivores
Législation vétérinaire et Déontologie clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	M. TOURNUT
Maître de Conférences	M. BEZILLE
Maître Assistant	M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	M. CAZIEUX
Maître Assistant Agrégé	M. GENEVOIS
Maître Assistant	M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Technique Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	M. FERNEY
Professeur sans chaire	M. ROYAL
Maître Assistant Agrégé	M. TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	M. CHANTAL
Maître Assistant	M. GANIERE

Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	M. LAUTIE
Maître Assistant Agrégé	M. BODIN
Maître Assistant	M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire	M. QUEINNEC
Professeur sans chaire	DARRE
Maître Assistant	Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des productions animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	M. FALIU
Professeur sans chaire	M. GRIESS
Maître Assistant Agrégé	M. PARAGON

Botanique appliquée et Bromatologie- Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs : ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A CHARLY et à CHRISTINE

A TOUS MES AMIS.

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur CROS
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

que nous remercions pour son accueil chaleureux et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de notre jury de Thèse.

A notre Jury de Thèse :

Monsieur le Professeur RUCKEBUSCH
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Son enseignement et ses qualités de chercheur ont éveillé notre curiosité.

Monsieur le Professeur GUELFI

Pour la qualité de son enseignement.

A Monsieur le Professeur TOUTAIN

pour ses précieux conseils.

A Yves AUDIGIER et Annie VALETTE

pour leur aide et leur patience

et à tous les membres des Laboratoires
placés sous la direction de Mr. le Pr. CROS.

MORPHINIQUES & ENDORPHINES

HISTORIQUE

I - LES RÉCEPTEURS

1-1 PREUVES INDIRECTES DE LEUR EXISTENCE

1-2 PREUVES DIRECTES DE LEUR EXISTENCE

1.2.1 Méthodologie générale

1.2.2 Caractérisation du récepteur (en annexe I)

1.2.3 Différents types de récepteurs

II - LES ENDORPHINES

2-1 ETAPES DE LEUR DECOUVERTE

2-2 BIOSYNTHESE ET DEGRADATION

2.2.1 β Endorphine / β Lipotropine

a) au niveau hypophysaire
b) au niveau cérébral

2.2.2 Enképhalines

2.2.3 Dégradation

2-3 DISTRIBUTION DES ENDORPHINES

2.3.1 Au niveau du cerveau

a) enképhalines
b) β Endorphine / β Lipotropine

2.3.2 Au niveau pituitaire

2.3.3 Au niveau du Tractus digestif

2-4 INTERACTIONS AVEC LES SYSTEMES NEUROTRANSMETTEURS

2-5 SOMMAIRE : DEFINITION DE DEUX SYSTEMES ENDORPHINIQUES

III - PARTICIPATION DES ENDORPHINES AUX FONCTIONS ORGANIQUES

3-1 ACTIONS GASTRO-INTESTINALES

3.1.1 Activité sécrétoire

a) estomac
b) pancréas

3.1.2 Activité motrice

a) effets pharmacologiques de la morphine et de la met enképhaline
b) site d'action
c) mode d'action et rôle physiologique des enképhalines

3.1.3 Les enképhalines dans l'intestin de cobaye.

3-2 ACTIONS NEUROENDOCRINIENNES DES ENKEPHALINES

3.2.1 Sur la sécrétion de l'hypophyse antérieure

a) prolactine (PRL) et hormone de croissance (GH)
b) hormone de stimulation thyroïdienne (TSH)
c) gonadotrophines (FSH) et (LH)

3.2.2 Sur les sécrétions post-hypophysaires

3-3 ACTIONS ENDOCRINIENNES (OU A PARTICIPATION ENDOCRINIENNE) DE LA β ENDORPHINE

3.3.1 Hormone placentaire

3.3.2 Pancréas endocrine

3.3.3 Comportement alimentaire et dipsique

3.3.4 Endorphines et thermorégulation

3.3.5 Endorphines et respiration

3.3.6 Endorphines et stress

3-4 ACTION ANALGESIQUE DES ENFORPHINES

3.4.1 La Douleur (rappel)

a) définition
b) théories de la douleur
c) les voies ascendantes
   - Système lemniscal
   - Système néo spinothalamique
   - Système paléo spinothalamique
   - Autres systèmes
d) Les voies inhibitrices descendantes

3.4.2 Analgésie par stimulation électrique

3.4.3 Analgésie morphinique

a) anatomie
   - Récepteurs
   - Sites d'actions centraux
   - Effets spinaux
b) mécanismes neuronaux
c) conclusions.

HISTORIQUE

L'opium est probablement le plus vieux médicament connu de l'homme. On trouve référence à l'usage d'un suc extrait de la graine du pavot dans les écrits de THEOPHRASTE du IVe siècle av. J.C. On a des raisons de croire que les effets psychotropes de l'opium étaient connus des anciens Sumériens (4000 ans av.J.C.) et des anciens Egyptiens (2000 ans av.J.C.) ; les médecins grecs de la plus haute antiquité savaient que l'opium engendre une dépendance physique et psychologique. La morphine, principal alcaloïde extrait du Pavot, Papaver somniferus, est encore de nos jours le plus efficace des remèdes contre la douleur. La capacité qu'ont la morphine et un grand nombre de substances dérivées, certaines naturelles et d'autres synthétiques, d'abolir la douleur a depuis longtemps fasciné les chercheurs et les médecins, d'autant plus que la morphine possède de nombreux autres effets : euphorie, sommeil, catalepsie, dépression respiratoire, constipation, et qu'elle engendre la tolérance et la dépendance physiologique chez l'utilisateur.

La tolérance est le déclin frappant d'activité après plusieurs usages. La dépendance est mise à évidence par les symptômes dramatiques, physiques et psychologiques, observés chez les hommes ou les animaux lorsqu'on les sèvre de la substance morphinique à laquelle ils sont accoutumés.

Malgré de longues années de recherche on ne savait rien des mécanismes d'action responsables d'effets si variés. Les progrès réalisés dans les dernières années permettent de voir les choses de manières logique et unitaire. L'élément central de cette compréhension a été la mise en évidence d'un récepteur, c'est à dire un site moléculaire sub cellulaire pouvant lier spécifiquement la morphine ou les substances dérivées.

La démonstration univoque de l'existence des récepteurs a été apportée simultanément et séparément par trois équipes en 1973 (PERT & SNYDER, 1973 ; SIMON, HILLER & EDELMAN, 1973 ; TERENIUS, 1973). Signalons cependant que les travaux de GOLDSTEIN en 1971 avaient ouvert la voie de façon décisive et qu'on avait depuis longtemps les indices d'un type d'intéraction particulier et spécifique de la morphine avec l'organisme.

I. LES RECEPTEURS

I-I PREUVES INDIRECTES DE L'EXISTENCE DES RÉCEPTEURS

Certains effets pharmacologiques des morphiniques IN VIVO attirent particulièrement l'attention :

. le maintien d'un état de conscience au cours de l'analgésie les distinguent nettement des anesthésiques.

. les effets respiratoires et analgésiques de certains produits comme l'Etorphine peuvent se manifester à dose infinitésimale : 1 µmol/kg.

L'existence de caractéristiques structurales communes à tous les morphiniques (cf. annexe 1) fait penser qu'ils puissent agir en des sites déterminés. Plus encore, le fait que les morphiniques existent sous deux formes énantiomères (L) et (D) et que seules les formes lévogyres (L) soient actives (le Lévorphanol est ainsi 10.000 fois plus actif que le Dextrorphan), laisse entrevoir un type d'action très spécifique des morphiniques dans l'organisme.

Les preuves ne pouvaient être apportées que par des sytèmes isolés IN VITRO.

On a ainsi pu montrer que certaines préparations répondent de façon spécifique aux morphiniques : les effets surviennent à des concentrations très faibles et peuvent être totalement inversés par l'adjonction de Naloxone.

Le Naloxone est un morphinique à activité antagoniste pure, c'est à dire qu'il est dépourvu d'activité propre mais est capable de s'opposer complètement à l'action d'un agoniste ; dans les préparations suivantes son action est totale :

ORGANE	EFFETS DE LA MORPHINE
Iléon de Cobaye	Inhibition de la libération d'Ach par stimulation électrique
Oreillette de Lapin	Inhibition de la libération d'Ach par stimulation électrique
Coeur de rat	Inhibition de la libération d'Ach par stimulation électrique
Canal déférent de Souris	Inhibition de la libération de N.A. par stimulation électrique
Membrane nictitante de Chat	Inhibition de la libération de N.A. par stimulation électrique

Ach = Acétyl choline
N.A.= Nor Adrénaline

D'autres préparations répondent également à la présence de morphine dans le milieu mais les effets ne sont pas inversés par le Naloxone. Cela montre bien la particularité du premier type de préparation.

1-2 PREUVES DIRECTES DE L'EXISTENCE DES RÉCEPTEURS

1.2.1 METHODOLOGIE GENERALE

La technique employée par GOLDSTEIN (71) a consisté à observer les caractères de la liaison d'un ligand radioactif à un homogénat de cerveau de rat. Cette technique, affinée par PERT et SNYDER (73), est décrite en annexe 1 et nous ne mentionnerons ici que les grandes notions dégagées par le test de liaison ou "binding".

L'incubation pendant un temps donné d'un homogénat de cerveau en présence de concentrations croissantes d'un morphinique tritié, permet de tracer une courbe morphinique liée en fonction de la quantité totale de morphinique dont l'allure est caractéristique.

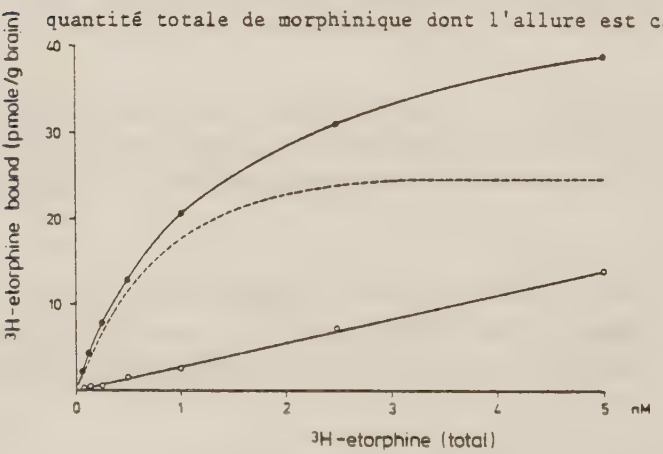


Fig. 1. Saturation curve obtained by binding of increasing amounts of ^{3}H-etorphine to crude rat brain membranes diluted 1 : 100 with 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4 at 25°C). Total binding is graphed by o———o. The unspecific binding is represented by the lower curve, measured as the binding in the presence of 1 uM unlabelled etorphine (o———o). The difference curve represents the calculated amount of specifically

Cette courbe présente deux parties et l'on peut démontrer par transformation linéaire que c'est la résultante de deux mécanismes de liaison :

. une liaison saturable
. une liaison insaturable

Les expériences initiales de GOLDSTEIN (71) ont consisté à démontrer que la liaison non saturable était faite d'intéractions non spécifiques (capture et dissolution du ligand dans les membranes lipidiques) alors que la liaison saturable était faite essentiellement d'intéractions spécifiques (il existe également des intéractions saturables non spécifiques, mais en comparant la liaison d'un produit de forme (L) active à celle de son énantiomère (D), on s'aperçoit qu'elles sont faibles).

Sur cette courbe on peut lire directement ou après transformation la constante d'équilibre K_D de l'équilibre récepteur - ligand qui marque la concentration de ligand chaud pour laquelle le rapport liaison spécifique/non spécifique est maximal - c'est donc à la valeur K_D que l'on doit mener toutes les manipulations subséquentes (ex. : déplacement par un autre ligand)

1.2.2 CARACTERISATION DU RECEPTEUR

Voir annexe I

1.2.3 DIFFERENTS TYPES DE RECEPTEURS

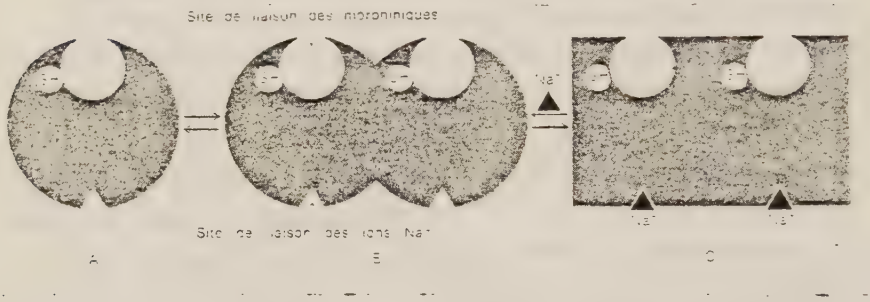
La plupart des systèmes neuronaux identifiés à ce jour montrent qu'il existe souvent plusieurs types de récepteurs pour un même neuromédiateur (système cholinergique par exemple) ou pour des neuromédiateurs de structures chimiques très voisines (systèmes catécholaminergiques et histaminergiques, par exemple) et que les effets de la liaison d'un agoniste à l'un ou l'autre type peut provoquer des réponses opposées.

La question de la multiplicité des récepteurs morphiniques se pose à deux égards :

. pouvoir agoniste et antagoniste sont-ils médiés par les mêmes récepteurs ?
. les différents ligands andogènes (cf. plus bas) sont-ils agonistes des mêmes récepteurs ?

a) AGONISME ET ANTAGONISME

Nous avons vu que la présence de Na^+ dans le milieu d'incubation, lorsqu'on réalise un test de liaison, affecte différemment leurs agonistes et antagonistes morphiniques. SIMON (1977) pense que cet "effet sodium" traduit une labilité conformationnelle du récepteur car il met en évidence (par un test d'inactivation à la N éthyl maleimide) une réactivité différente des groupes SH en présence et en l'absence de Na^+. Son schéma s'établit ainsi :



Ce schéma n'explique pas les faits chimiques de la liaison différente des agonistes et antagonistes ; il indique néanmoins que le récepteur peut exister dans différentes conformations et que le sodium joue un rôle dans les phénomènes de liaison ou ceux qui en découlent.

Les mécanismes en cause sont d'autant plus difficiles à analyser qu'il n'a pas été possible d'isoler le récepteur jusqu'à présent.

b) AGONISTES MULTIPLES ET RECEPTEURS MULTIPLES

La question de la multiplicité des récepteurs se pose en termes aigus depuis la mise en évidence de ligands endogènes des récepteurs "morphiniques". Le terme générique désignant ces substances est endorphine ; nous n'aborderons pas ici le détail des processus qui ont abouti à leur découverte (voir 2.1), pour la suite de l'exposé nous donnons sous forme de tableau les grandes familles d'endorphines.

NOMENCLATURE	NATURE	REFERENCE
α endorphine	β LPH 61-76	GUILLEMIN & al. (1976)
β endorphine	β LPH 61-91	LI & al. (1976)
γ endorphine	β LPH 61-77	GUILLEMIN & al. (1976)
Méthionine enképhaline	TYR-GLY-GLY-phe-Met = β LPH 61-65	HUGUES & al.(1976)
Leucine enképhaline	TYR-GLY-GLY-phe-Leu	HUGUES & al.(1976)

Les substances sur lesquelles nous avons le plus de détails sont les enképhalines :

- elles ont une distribution large dans le cerveau et dans le système nerveux périphérique,
- Met-Enk et Leu-Enk ont des propriétés très semblables mais elles sont très sensibles à la dégradation enzymatique.

La β endorphine attire l'attention par sa stabilité bien supérieure et sa répartition localisée à la pituitaire.

Bien qu'elles dérivent toutes structuralement de la β LPH, ces substances ont des parentés très incertaines.

Les premiers résultats montrant des différences d'affinité pour le récepteur entre des morphiniques ont été obtenus à l'Unit for research on addictive drugs d'Aberdeen; HUTCHINSON et ses collaborateurs (1975) étudient quatre composés de la série des benzomorphanes dépourvus d'activité antagoniste mais qui ne peuvent se substituer à la morphine chez le singe dépendant, ils montrent :

- que ces substances ont un pouvoir 4 à 5 fois supérieur sur l'iléon de cobaye que sur le canal déférent de souris (en prenant la morphine comme référence dans chaque préparation)
- que leur pouvoir de déplacement de la H^3 dihydromorphine sur cerveau de souris est bien mieux correllé à leur activité sur le canal déférent
- que le Naloxone doit être employé à dose 4 à 7 fois supérieure pour antagoniser l'action de ces substances que pour antagoniser les benzomorphanes qui peuvent substituer la morphine.

A la même époque, MARTIN & al. (1967-1976) utilisant un matériel biologique très particulier (le chien spinal sur lequel ils observent les signes comportementaux à la privation de drogues accoutumantes) postulaient à l'existence de trois types de récepteurs :

les récepteurs μ , agoniste type : la morphine

les récepteurs κ , agoniste type : kétocyclazocine (un des benzomorphanes étudié par HUTCHISON & al. cf.dito)

les récepteurs τ , agoniste type : N allyl Norcyclazocine

L'équipe d'ABERDEEN (LORD & al., 1977) a ensuite fait une étude complète de la question, en comparant les résultats de tests de déplacement de H^3 - Naloxone et H^3 Morphine, et des tests d'activité sur l'iléon de cobaye et le canal déférent de souris ; ils arrivent à la conclusion qu'il existe différents types de récepteurs dont la répartition n'est pas homogène selon la préparation utilisée.

On peut résumer leurs travaux de la façon suivante :

TYPE DE RECEPTEUR	ANTAGONISTES TYPE	AGONISTES TYPE	LOCALISATION
μ	NALOXONE Mr 2266	MORPHINE ENKEPHALINES β ENDORPHINE	Iléon de cobaye Cerveau
κ	Mr 2266	KETOCYCLAZOCINE	Iléon de Cobaye
δ	diprénorphine ?	ENKEPHALINES β ENDORPHINE	Canal déférent de souris Cerveau

Par rapport à la classification de MARTIN (1976), la nouveauté est la caractérisation d'un récepteur spécifique aux enképhalines sur lequel elles ne sont pas antagonisées par le Naloxone et pour lequel on ne possède pas d'antagoniste très puissant.

La β endorphine, à l'opposé, se lie également bien à tous les types de récepteur sauf peut-être le récepteur κ pour lequel on n'a pas de preuve qu'il lie les peptides endogènes.

Les autres résultats qui sont sortis de cette étude sont que :

. Leu-Enk et Met-Enk ont un profil d'activité un peu différent, la Met-Enk semblant lier mieux le récepteur μ (elle déplace mieux le Naloxone)

. La synthèse d'analogues des enképhalines ne produit pas forcément des molécules à profil δ agoniste ; ainsi

- le Met-Enképhalinamide a le même profil que la Morphine
- la $(D\ Ala)_2$ Met-Enképhaline a le même profil que les Enképhalines.

En pratique, il est désormais impossible de tester une molécule morphinique sur un seul système.

L'existence du récepteur à la kétocyclozocine a récemment été mise en doute et les études visant à discriminer le comportement des enképhalines synthétiques vis-à-vis des récepteurs, ne raisonnent qu'en termes de récepteur μ et δ. (AUDIGIER et al., 1980/n° 225)

II- LES ENDORPHINES

2.1 LES ÉTAPES DE LEUR DÉCOUVERTE

La mise en évidence de récepteurs liant les morphiniques de façon spécifique soulevait la question de l'acquisition et de la stabilité évolutive de ces molécules chez les vertébrés. On ne connaît en effet que deux espèces utilisant le pavot : l'homme pour ses besoins médicaux et l'ochotone pour ses besoins alimentaires.

D'autre part, les poissons possèdent des récepteurs "morphiniques" mais l'on ne connaît pas de plante aquatique contenant les mêmes alcaloïdes que le pavot. Ces faits s'accordent mal avec la distribution large et systématisée des récepteurs dans le cerveau et au niveau périphérique.

De nombreuses équipes se mirent donc en quête d'une "morphine endogène". Initialement, les chercheurs firent des extraits de cerveau et essayèrent d'identifier une activité opioïde sur les tests biologiques ou une fixation spécifique par le test de liaison.

Plusieurs publications rapportèrent que de tels extraits diminuaient les contractions induites de l'Iléon de Cobaye ou du Canal déférent de souris et que le Naloxone s'opposait à cet effet (HUGUES & al. 1975a, TERENIUS & WAHLSTROM 1975, PASTERNAK & al. 1975b). De plus ces extraits entrant en compétition avec H^3 Naloxone pour l'occupation des sites récepteurs (PASTERNAK & al. 1976).

Des extraits de pituitaire (COX & al. 1975, 1976a) et d'intestin (SHULZ & al. 1977a,b) contiennent également des substances opioïdes.

D'autres études, menées avant l'identification chimique du ligand endogène, amenaient des résultats intéressants. L'étude phylogénétique de SIMANTOV & al. (1976c) montrait que tous les vertébrés des poissons à l'homme possédaient des facteurs morphiniques dans les extraits de cerveau ; les concentrations les plus élevées sont rencontrées chez le crapaud (ceci est peu étonnant en regard de la richesse de cette espèce en peptides bioactifs de natures variées).

Dès ce stade de recherche, on connaissant des différences importantes entre morphine et ligands endogènes. D'abord le poids moléculaire (PM) était élevé 800 à 1000 D*(d'après HUGUES, 1975) dans les extraits de cerveau, les extraits pituitaires de COX & al. (1975) montraient que l'activité opioïde était portée par des molécules de PM 1500-3000 D*.

La surprise est venue de la constatation que la carboxypeptidase et la leucine aminopeptidase détruisaient l'activité opioïde des extraits de cerveau ; le facteur morphinique était donc un peptide.

Le premier succès dans l'isolement d'un ligand endogène aux récepteurs morphiniques fut rapporté par HUGUES & ses collaborateurs en 1975 ; le facteur endogène qu'ils avaient nommé enképhaline, se trouvait en fait être deux pentapeptides de structure :

H_2N - TYR - GLY - GLY - PHE - MET - OH Méthionine Enképhaline Met-Enk
H_2N - TYR - GLY - GLY - PHE - LEU - OH Leucine Enképhaline Leu-Enk

L'existence de ces deux peptides fut rapidement confirmée par SIMANTOV & SNYDER (1976a) qui trouvèrent que chez le veau la Leu Enk est le peptide dominant contrairement à la plupart des espèces (SMITH & al. 1976).

HUGUES & al. (1975b) ont tout de suite relevé le fait essentiel que la séquence de la Met Enk était contenue dans la séquence d'un peptide de 91 Acides Aminés, nommé β Lipotropine.

Isolé par LI en 1964, à partir d'hypophyse d'ovins, puis de bovins et de porcins, ce peptide avait une faible activité lipolytique de même que la fraction N terminale de 58AA nommée γ Lipotropine. On savait également que cette γ Lipotropine contenait la séquence de la β MSH ce qui lui prêtait un rôle de précurseur, par contre le fragment C terminal (β Lipotropine 61-91) isolé par BRADBURY et al. (1976a) était en quête d'un rôle. L'observation que la séquence de la Met Enk, était la même que β Lipotropine 61-65 décida de nombreuses équipes à rechercher l'activité opioïde du fragment C terminal de la β Lipotropine. BRADBURY et al. (1976b) ainsi que COX et al. 1976b montrèrent qu'il était au moins aussi puissant que la Met Enk. LI a depuis isolé ce peptide de l'hypophyse de chameau, mouton, porc et d'homme (LI, 1977). Il existe également dans le SNC de ces espèces.

* D = Dalton

Il faut ici expliciter la nomenclature de ces différents fragments. Le terme générique pour les substances à activité opioïde d'origine endogène est Endorphine. Les enképhalines sont les pentapeptides isolés par HUGUES et sont donc un cas particulier. D'autres endorphines dérivant de la β Lipotropine ont été isolés par GUILLEMIN et al. (1976) on les appelle respectivement α, β et γ endorphine.

Leucine enképhaline	Leu Enk	Tyr - Gly - Gly - Phe - Met
Méthione enképhaline	Met Enk	β LPH 61 ⟷ 65
α endorphine	α End	β LPH 61 ⟷ 76
γ endorphine	γ End	β LPH 61 ⟷ 77
β endorphine = fragment C terminal	β End	β LPH 61 ⟷ 91

Nous consacrons la majeure partie de ce travail à l'étude des endorphines chimiquement définies que nous venons de citer.

Cependant il faut garder à l'esprit qu'un certain nombre de substances à activité opioïde mais de structure non élucidée ont été décrites :

. Un peptide de faible PM isolé dans le LCR humain
(TERENUS & WAHLSTRÖM, 1975)

. Un dérivé d'enképhaline résistant à la dégradation enzymatique dans le LCR humain.
(SARNE & al., 1978)

. Une morphine endogène à longue durée d'action, détectée dans le sang et l'intestin grêle, mais dont la nature peptidique n'est pas assurée.
(SCHULZ & al., 1977a)

. Une Leu β endorphine, isolée par dialyse plasmatique d'un patient schizophrène (PALMON & al. 1977), mais il s'agit d'un cas unique.
Dans le même ordre d'évènement, il faut citer l'α néo endorphine identifiée par KANGAWA et al. (1979).

. D'autres peptides de haut poids moléculaire avaient été détectés par GOLDSTEIN & al. (1977b), et COX & al. (1976b). L'équipe de GOLDSTEIN a depuis identifé un peptide hypophysaire, appelé Dynophine dont la séquence I-β présente une activité biologique très importante.

. Les Médullo Surrénales contiennent des peptides de haut poids moléculaire et des peptides de faible P.M. dont deux ont été identifiés dans la glande surrénale et les corps striés.
(STERN & al., 1979)

On connaît ainsi à l'heure actuelle plusieurs peptides à séquence N terminale de type enképhaline :

β Endorphine	Tyr - Gly - Gly - Phe - Met - Thr - Ser -
α néo Endorphine	Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu - Arg - Lys -
Adrenal heptapeptide	- Met - Arg - Phe
Adrenal tryptic peptide	- Met - Lys

Ces trois derniers peptides possèdent tous en position 6 un résidu basique Arg ou Lys ; ils sont donc susceptibles de produire de l'enképhaline sous l'action combinée de carboxypeptidase β et de trypsine. Tous ces fragments, de connaissance récente (et ceux qui restent à découvrir) apporteront peut-être des éclaircissements quant au métabolisme des endorphines dont on ne connaît, à l'heure actuelle, que très peu de choses.

A côté de ces substances peptidiques, GINTZLER et al. (1976) ont décrit une endorphine résolument non peptidique, détectée par des anticorps anti morphine et qu'ils nomment MLC (morphine like compound). Ce composé a une très haute affinité pour le récepteur (BLUME & al. 1977), par immunocytochimie GINTZLER et al. (1978) ont montré que le MLC participe à un système vestibule-raphé-cervelet.

2.2 BIOSYNTHÈSE ET DÉGRADATION

2.2.1 β ENDORPHINE / β LIPOTROPINE

Un des aspects les plus intéressants des recherches sur les peptides morphinominétiques, concerne la biosynthèse de β Endorphine par la pituitaire. Dans le but de clarifier l'exposé nous commencerons par quelques mot sur la synthèse de l'ACTH.

a) Au niveau de l'hypophyse

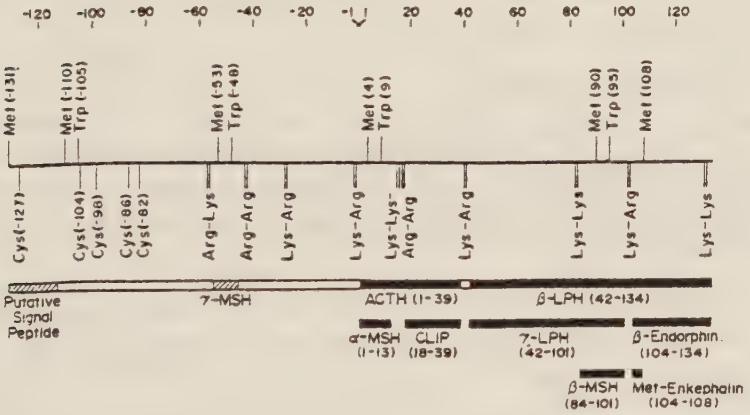
On sait qu'un sérum anti ACTH peut précipiter des molécules de poids moléculaires fort différents (EIPPER et MAINS, 1976 ; YALOW et BERSON, 1973). La plus grosse de ces molécules a un P.M. 31000 et fut appelée "Big ACTH" (EIPPER & al., 1976).

Cette molécule a une faible activité biologique et sa surproduction par des tumeurs pulmonaires ne provoque pas de syndrôme de CUSHING (REES, 1975). En 1976, MAINS et EIPPER démontrèrent que Big ACTH est le précurseur naturel de ACTH I-39, d'autres chercheurs ont montré que le mRNA isolé de cellules pituitaires de boeuf peut être traduit en milieu acellulaire pour produire de la "Big ACTH" (NAKANISHI, 1976). De plus l'administration de dexamethasone qui réduit le contenu pituitaire en ACTH, diminue également la quantité de mRNA transcriptible en "Big ACTH".

En utilisant les mêmes techniques que précédemment MAINS & al. (1977) ont montré qu'un sérum anti β End. est capable de précipiter des fragments de P.M. variés dont le plus gros a un P.M. 31000 et se trouve être le même que "Big ACTH". Des résultats du même ordre ont été obtenus par RUBINSTEIN & al. (1977a) qui nomment le produit "proopiocortine". Une autre terminologie employée est précurseur 31K.

Les preuves définitives du couplage de la synthèse ont été apportées par ROBERT & HERBERT (1977), qui ont fait transcrire le mRNA de cellules tumorales AtT-20 en système acellulaire, obtiennent un produit synthétisé de P.M. ≈ 28500 dont l'analyse révèle la séquence de ACTH et β Lipotropine.

Depuis, NAKANISHI et al. ont réussi à retranscrire le DNA initiateur de ce mRNA ; ils en tirent la séquence du précurseur commun.



En microscopie, BLOOM et al. (1978) ont observé que la β End et ACTH étaient présentes dans les mêmes cellules de l'adénohypophyse et de la pars intermédia ; ultérieurement, on a pu montrer qu'elles étaient secrétées dans les mêmes granules (WEBER et al., 1979). D'autre part, la libération de ces deux hormones semble être orchestrée de la même façon chez le rat (ROSSIER et al., 1977). La stabilité et le mode de libération de ces hormones n'est pas encore élucidé ; KRIEGER et al. (1977) ne trouvent pas de β Endorphine chez les sujets humains normaux ou soumis à un stress à la

vasopressine. Ces résultats ont été confirmés par AKIL et al. (1979) qui montrent que les taux plasmatiques de β End sont nuls chez l'homme alors qu'ils sont élevés chez le rat ; dans cette dernière espèce, la surrénalectomie produit une augmentation importante du taux de β End plasmatique.

Il faut signaler ici les travaux de SIMANTOV (1979) qui montrent que les glucocorticoïdes diminuent le taux de β End plasmatique (ils agiraient en bloquant la synthèse du mRNA codant le précurseur 31K).

Les détails de la libération de β Endorphine dans le sang ne sont pas connus avec précision et semblent varier selon les espèces. Néanmoins, il est certain que la synthèse de β End. au niveau pituitaire est liée à celle de ACTH ; l'observation de conditions humaines pathologiques comme les syndromes de CUSHING, de NELSON ou d'ADDISON au cours desquelles il y a hyperproduction d'ACTH révèle également une hyperproduction de β End. plasmatique (SUDA et al., 1977 ; AKIL et al., 1979 ; HERZ et al., 1979).

b) Au niveau du cerveau

On sait que ACTH, β Lipotropine et β Endorphine existent toutes dans le SNC (KRIEGER et al., 1977b, LA BELLA et al., 1977, ROSSIER et al., 1977). Cependant on ne sait si leur biosynthèse est liée dans ce tissu.

Il semble que ACTH, β LPH et β End soient présentes dans les mêmes cellules au niveau hypothalamique mais le précurseur 31K n'y a pas été identifié.

On peut alors se poser la question de l'origine de ce matériel : synthèse locale dans les cellules de l'hypothalamus ou transport rétrograde à partir de la pituitaire ?

2.2.2 ENKEPHALINES

On connaît, à présent, bien peu de choses de la biosynthèse des Methionine enképhaline et de Leucine enképhaline.

La β End contient la séquence de Met Enk et un rôle de précurseur dans la synthèse de celle-ci paraissait raisonnable ; cette hypothèse n'a reçu que des démentis : les tentatives de recouvrement de Met Enk à partir de β End ont donné des résultats décevants ; la distribution très différente des deux peptites dans le cerveau et le fait que la section de l'hypophyse, la principale source de β End (FRATTA et al., 1977) ne modifie pas le contenu en Met Enk du cerveau, sont des arguments a contrario très forts.

De nombreux peptides devront poser leur candidature au rôle de précurseur de la Met Enk. La synthèse sur le ribosone de peptides d'aussi faible poids moléculaire n'étant pas connu chez les Enkaryotes. Les peptides isolés par STERN et al. (1979) de la surrénale possédant la séquence Met Enk , mais on connaît encore peu de chose à leur sujet.

Tour ce qui a été dit par la Met Enk, est vrai pour la Leu Enk sauf qu'on ne connaissait jusqu'à fort récemment aucun peptide contenant la séquence Leu Enképhaline. Les travaux de KANGAWA et al. (1979) ont permis d'isoler un tel peptide (α néo endorphine), peut-être est-ce là une piste sérieuse.

2.2.3 DEGRADATION

La dégradation des endorphines a fait l'objet de travaux assez fragmentaires jusqu'à présent mais certaines données paraissent bien acquises. Les enképhalines sont très rapidement détruites par des enzymes contenus dans divers tissus et le sang, à l'opposé la β End est beaucoup plus stable (HAMBROOK et al. 1976 ; MILLER et al. 1977). Ceci explique l'activité antinociceptive beaucoup plus grande de la β End par voie intracérébroventriculaire (ICV).

Le principal mode de dégradation des enképhalines est un clivage du résidu Tyrosine N terminal (HAMBROOK et al., 1976). L'activité hydrolisante du tissu cérébral est localisée dans les fractions synaptosomales et serait associée de près aux récepteurs ; on a ainsi pu décrire un second site récepteur (MALPOY et al. 1977).

La bacitracine (MILLER et al. 1977) et la O-phénantioline (MEEK et al., 1977) sont capables de protéger les enképhalines contre la dégradation.

La β Endorphine peut également être dégradée par un enzyme dans des fractions synaptosomales (AUSTEN et al. 1977). Les produits formés dépendent du pH et de la présence de Bacitracine. Dans certaines conditions, on peut ainsi obtenir α End, γ End ou Met Enk.

On connaît peu de choses de la nature des enzymes impliquées dans ces transformations, cependant la première étape dans la coupure de la β End serait initiée par une endopeptidase, la dégradation de γ End par un aminopeptidase. On ne sait malheureusement pas si ces réactions ont lieu in situ, ce problème compliqué ne pourra être résolu que par la mise au point d'inhibitions spécifiques de l'activité enzymatique ; ce travail entrepris dans le laboratoire de SCHWARZ à Paris semble donner des résultats positifs dans le cas des enképhalines (MALFROY et al., 1978).

2.3 DISTRIBUTION DES ENDORPHINES

Les deux techniques permettant de localiser les endorphines en divers territoires de l'organisme sont les dosages radioimmunologiques et l'immunohistochimie.

- La radioimmunologie ("Radioimmunoassay" RIA) permet le dosage après extraction tissulaire des endorphines. C'est donc une méthode quantitative mais qui ne fournit pas une description précise.
- L'immunohistochimie utilise l'incubation d'un sérum immun couplé à un colorant pour révèler sur des coupes histologiques la localisation précise des corps cellulaires et des fibres contenant de l'enképhaline ou de la β Endorphine.

2.3.1 AU NIVEAU DU CERVEAU

a) Les enképhalines

Par radioimmunologie, on a pu montrer rapidement que la répartition des enképhalines dans les diverses structures du cerveau est hétérogène. On peut citer les résultats de KODAYASHI et al. (1978) pour ce propos ; les auteurs prèlèvent des "carottes" en divers territoires et les ont classées selon leur richesse en enképhaline. Leurs résultats montrent que le globus pallidus est la région, de loin, la plus riche en enképhalines (cf. figure + tableau).

TABLE I

REGIONAL DISTRIBUTION OF BRAIN ENKEPHALIN AND EFFECTS OF HYPOPHYSECTOMY (PMOL/MG PROTEIN)[a]

Region	Normal				Hypophysectomized			
	Total	Met	Leu	M:L	Total	Met	Leu	M:L
Globus pallidus	35.0	29.5 ± 3.5	5.5 ± 0.10	5.4	36.5	31.5 ± 2.8	5.0 ± 0.35	6.3
Central gray	6.5	4.8 ± 0.2	1.7 ± 0.09	2.8	6.6	5.1 ± 0.4	1.5 ± 0.07	3.4
Nucleus accumbens	6.3	5.2 ± 0.4	1.1 ± 0.09	4.7	6.5	5.6 ± 0.4	0.91 ± 0.06	6.2
Medial hypothalamus	5.0	4.4 ± 0.3	0.60 ± 0.07	7.3	4.2	3.7 ± 0.3	0.53 ± 0.01	7.0
Amygdala	4.5	3.3 ± 0.3	1.2 ± 0.07	2.8	5.1	3.3 ± 0.2	1.8 ± 0.1	1.8
Pons	3.4	2.8 ± 0.4	0.55 ± 0.04	5.1	2.7	2.2 ± 0.4	0.51 ± 0.02	4.3
Medulla	3.3	2.6 ± 0.6	0.70 ± 0.06	3.7	2.9	2.2 ± 0.3	0.66 ± 0.08	3.3
Caudate-putamen	3.1	2.6 ± 0.4	0.53 ± 0.06	4.9	3.3	2.5 ± 0.2	0.75 ± 0.06	3.3
Thalamus	2.6	2.0 ± 0.1	0.64 ± 0.03	3.1	3.0	2.3 ± 0.2	0.66 ± 0.02	3.5
Septal area	2.3	2.0 ± 0.3	0.40 ± 0.02	5.0	2.2	1.8 ± 0.2	0.37 ± 0.03	4.9
Lateral hypothalamus	2.1	1.9 ± 0.3	0.22 ± 0.02	8.6	1.6	1.4 ± 0.1	0.18 ± 0.01	7.8
Midbrain	1.5	1.2 ± 0.1	0.31 ± 0.04	3.9	1.3	1.0 ± 0.1	0.28 ± 0.03	3.6
Hippocampus	1.3	1.1 ± 0.08	0.17 ± 0.02	6.5	1.5	1.3 ± 0.10	0.17 ± 0.04	7.7
Cerebral cortex	1.3	0.81 ± 0.09	0.44 ± 0.04	1.8	1.4	1.0 ± 0.05	0.37 ± 0.04	2.7
Preoptic area	1.1	0.95 ± 0.10	0.11 ± 0.01	8.6	0.9	0.79 ± 0.06	0.10 ± 0.02	7.9
Cerebellum	—	0.2 ± 0.03	<0.1	—	—	0.1 ± 0.1	<0.1	—

obayashi *et al.* (1978).

Cette technique de RIA a auparavant permis à SMITH et al. (1976) d'établir des résultats d'importance. Ils ont ainsi montré que le taux de Met Enképhaline est environ trois fois plus important que celui de Leu Enképhaline dans le cerveau de rat, de cobaye, de souris et de lapin ; SIMANTOV & SNYDER (1976a) avaient à l'opposé trouvé un taux Met Enk / Leu Enk = $\frac{1}{2}$ sur le cerveau de veau ; de manière plus frappante encore, le rapport $\frac{\text{Met Enk}}{\text{Leu Enk}}$ varie selon la structure que l'on étudie et cela rend compte en partie de l'effet d'espèce observé (ainsi la Met Enk est présente dans le cervelet de lapin alors que le cobaye en est dépourvu).

Ce dernier fait amène à penser que Met Enk et Leu Enk ne sont pas contenues dans les mêmes neurones ; ce résultat a été établi récemment mais ne permet à présent aucune interprétation anatomique ou fonctionnelle.

De fait, le grand nombre de fragments peptidiques isolés récemment et qui contiennent un résidu enképhaline N terminal doit faire interpréter les résultats obtenus par les méthodes immunologiques avec précaution car tous les sérums utilisés peuvent donner lieu à des réactions croisées, la spécificité des dosages est donc sujette à caution. Pour cette raison, il apparait que de regrouper Met Enk et Leu Enk en une seule classe descriptive constitue une approximation acceptable, d'autant plus que la similitude de leur activité est très poussée.

Les nombreuses études immunohistochimiques réalisées par ELDE et HOKFELT et al. (1977) ; UHL et al. (1978,79) ; WATSON et al. (1977b); MILLER et CUATRECASAS (1978), ont permis de dégager une vision très précise de la localisation des enképhalines du cerveau.

Nous présenterons ici la description qu'en font MILLER et CUATRECASAS avant d'en proposer une interprétation succinte. Disons tout de suite que la répartition des enképhalines est proche de celle des récepteurs.

a① Télencéphale

Dans les tubercules olfactifs, des fibres immunoréactives aux enképhalines semblent exister.

Dans le SNC, le globus pallidus montre un marquage des fibres très serré, en forme de réseau. Dans le caudoputamen la coloration est beaucoup plus discrète ; la coloration n'y est pas uniforme et les parties les plus marquées sont celles adjacentes aux ventricules latéraux et au globus pallidus. Le Nucléus accumbens montre une coloration d'intensité moyenne en regard de la commissure antérieure.

Le noyau latéral du septum montre un marquage prononcé de ses fibres et de leurs renflements terminaux, en région para ventriculaire ; à l'opposé le noyau médial ne contient pas d'enképhaline.

De nombreuses fibres et terminaisons synaptiques immunoréactives peuvent être vues dans le noyau interstitiel de la strie terminale (entre l'aire préoptique et l'hypothalamus). Le noyau préoptique médial montre le marquage le plus prononcé. Dans la région de l'organe vasculaire de la lame terminale, rostralement et autour des récessus préoptiques, on note des terminaisons synaptiques légèrement colorées.

A ce niveau, le faisceau médian prosencéphalique montre de nombreuses fibres immunoréactives, qui paraissent associées aux structures immunoréactives de la strie terminale et rostralement avec le nucléus accumbens.

Des cellules à immunoréactivité enképhaline sont rencontrées parmi les cellules pyramidales des aires corticales cingulaires, occipitales et rétrosphéniales. Les dendrites de certaines de ces cellules semblent même contenir des enképhalines. Dans certaines cellules la coloration couvre toute la surface cellulaire.

Dans l'amygdale, une densité importante de fibres et de renflements terminaux colorés peut être vue dans le noyau central : le noyau amygdalien médial n'est coloré que dans sa partie dorsale.

Dans l'hyppocampe, les cellules pyramidales de l'aire CA-2 sont entourées de nombreuses fibres et terminaisons enképhalinoréactives. Par contre, les aires CA_1 ; CA_3 ; CA_4, le gyrus dentate et le subiculum ne montrent aucune immunoréactivité.

a ② Diencéphale

Une faible densité de fibres et de renflements synaptiques colorés peut être observée dans la partie dorsale du noyau préoptique médian, à proximité du noyau du lit de la strie terminale. A ce niveau de la région antérieure de l'hypothalamus, des terminaisons enképhalines positives sont notées dans la région périforniculaire et dans le faisceau médial prosencéphalique. On note encore des cellules à enképhaline dans les noyaux paraventriculaires, supra-optiques et dans l'hypothalamus latéral. Dans l'hypothalamus latéral et la région périforniculaire les cellules sont plus petites que dans les noyaux supra optiques et paraventriculaires.

Fibres et cellules enképhalino réactives existent encore dans les noyaux ventromédial et dorsomédial de l'hypothalamus ainsi que dans le noyau premammilaire ventral. Dans l'éminence médiane la couche externe contient des cellules montrant des granules sécrétoires très denses. Les zones adjacentes aux noyaux sous thalamique et aux aires de Forel H_1 et H_2, montrent également des fibres enképhalines positives.

a ③ Thalamus

Une coloration d'intensité faible ou moyenne peut être observée dans les fibres et cellules appartenant à divers groupes de noyaux. Parmi ceux-ci on peut signaler : les noyaux antéromédians, les noyaux antéro ventraux, les noyaux ventro dorsaux, le noyau réticulaire thalamique, le noyau parafasciculaire, le noyau périventriculaire rotondocellulaire, le noyau médial, la pars laterali, le noyau thalamique ventral ainsi que la substance grise centrale, le noyau habenulaire latéral et l'aire adjacente au Lemnisque médial.

a ④ Mecencéphale

Des fibres et des terminaisons colorées par le sérum anti enképhaline sont observées dans la substance grise centrale qui entoure l'aqueduc, dans la formation réticulée, la zone compacte de la substance noire et les structures séparant substance noire et Lemnisque médial. Dans les noyaux interpédonculaires, une coloration accentuée des fibres et cellules peut être observée. Au niveau des pédoncules cérébraux postérieurs, une immunoréactivité faible est notée dans la substance grise périaquaducale et les noyaux dorsaux du raphé. Le noyau cunéiforme ainsi que certaines portions des noyaux lemniscaux dorsaux, latéraux et médians montrent une immunoréactivité positive.

Au niveau du pont, des fibres et des renflements terminaux sont rencontrés dans le noyau tegmental dorsal (GUDDEN), le locus coeruleus, le noyau parabrachial latéral et médial, le noyau Lemniscal ventral, le noyau central supérieur, les noyaux du raphé pontique, ainsi que les noyaux cochléaires.

Plus caudalement, fibres et boutons synaptiques peuvent être visualisés dans les noyaux cochléaires dorsaux et ventraux, la substance gliale de la cochlée, les noyaux du raphé dont le nucléus raphé pontis et le nucléus raphé pallidus et le noyau du tractus spinal

du nerf trijumeau. Les cellules à enképhalines sont situées dans le noyau cochléaire dorsal, le noyau vestibulaire médial, le noyau vestibulaire spinal et la substance grise centrale.

Dans la formation réticulée on note des fibres et des vésicules terminales surtout au niveau des noyaux moteurs des nerfs crâniens IV, VII, X et XII ; à l'occasion on peut y voir des cellules à enképhaline.

Le noyau ambigu contient des fibres et des renflements terminaux à enképhaline. La bordure du noyau réticulaire magnocellulaire contient des fibres. Le noyau tractus solitaire montre tout au long de son trajet bulbaire, des fibres et des renflements à enképhaline.

Il y a continuité avec les fibres du noyau moteur dorsal du vague et latéralement avec le sous noyau zonal qui recouvre le noyau caudal du tractus spinal du nerf trijumeau. A leur tour, les fibres à enképhaline du noyau sous zonal semblent être en continuité avec la substance gélatineuse de la moelle épinière. Quelques cellules immunoréactives existent dans le noyau du trijumeau.

Dans la partie basse du tronc cérébral, le noyau de la commissure contient des fibres et des boutons terminaux qui semblent être en continuité, dorsalement avec les fibres du noyau tractus solitaire et ventralement avec le noyau hypoglosse.

a⑤ Moelle épinière

Les lames I, II, VI, VII et X de la substance grise des cornes dorsales de la moelle, montrent des fibres et des renflements terminaux à enképhaline. Un réseau dense de fibres marquées couvre les lames I et II ; les fibres sont disposées à la périphérie et sont en continuité avec celles des lames VI, VII et X.

Comme nous l'avions signalé plus haut, cette distribution suit d'assez près celle des récepteurs telle qu'elle a été décrite par SIMANTOV et al. (1976) par autoradiographie. Cette distribution se trouve être également très proche de celle d'autres peptides en particulier celle de substance P et de neurotensine.

Dans le cas de la substance P, HÖKFELT et al. (1977) ont remarqué une correspondance étroite avec la distribution de Met Enk dans les zones de transmission de la douleur. Ces zones comprennent la substance grise périaqueducale (GPA), le nucléus raphé magnus, la zone marginale de la substance gélatineuse du noyau spinal du trijumeau et de la corne dorsale de la moelle. Les auteurs pensent que les neurones enképhalinergiques sont des interneurones car le contenu enképhalinique n'est pas déprimé par section de la moelle ou par rhizotomie dorsale ; ces interneurones formeraient des synapses axo axoniques avec des neurones à substance P, afférents primaires de la douleur aux cornes dorsales de la moelle. Au niveau biochimique JESSEL et IVERSEN (1977) ont montré que la libération de substance P (produite par stimulation électrique ou par addition de K^+ au milieu) par la moelle épinière peut être inhibée par les enképhalines.

UHL et al. (1977) ont attiré l'attention sur la similitude de distribution des enképhalines et de neurotensine. Parmi les zones contenant de hautes concentrations des deux peptides on peut citer la substance gélatineuse (de la moelle épinière et du complexe trigeminal), le noyau tractus solitaire, le noyau du vague, le thalamus périventriculaire, l'amygdale centrale, l'éminence médiane, l'hypothalamus médiobasal, la strie terminale, le noyau interstitiel de la strie terminale. A présent on ne connaît aucune signification fonctionnelle à cette ressemblance, on ne connaît aucune interaction entre les deux systèmes, la neurotensine possède néanmoins un pouvoir analgésique.

L'arrangement des neurones à enképhaline est loin d'être élucidé et le rôle des récepteurs également. L'observation des différences de répartition entre enképhalines et récepteurs suggère qu'au niveau du caudo putamen, les récepteurs sont essentiellement de nature présynaptique. Au niveau de la moelle, SIMANTOV et al. (1977b) ont observé une frange de fibres enképhalinergiques autour du canal de l'ependyme, une région dépourvue de récepteurs ; ces fibres feraient donc synapse ailleurs.

La grande majorité des neurones à enképhaline sont des neurones courts (interneurones). Trois groupes d'expérience ont néanmoins mis en évidence l'existence de fibres longues :

. ELDE et al. (1978) ont montré l'existence dans l'hypothalamus d'une voie reliant les noyaux paraventriculaires à l'éminence médiane.

. CUELLO et al. (1978) ont montré qu'il existe une voie strio pallidale enképhalinergique, le caudatum contient des cellules et des fibres qui projettent au globus pallidus. Cette observation a amené des chercheurs à rechercher une participation des enképhalines dans les phénomènes de dégénérescence des voies dopaminergiques correspondantes (syndrome de Parkinson).

. UHL et al. (1978) procèdant par lésion du noyau central de l'amygdale pour démontrer que certaines cellules à ce niveau projettent leurs fibres au noyau interstitiel de la strie terminale.

Quelques faits de la distribution des enképhalines attirent particulièrement l'attention, un de ceux-ci est la localisation des peptides du globus pallidus. Les travaux de CUELLO et PAXINOS (1978) montrent que les concentrations élevées rencontrées à ce niveau trouvent en partie leur origine dans le caudo putamen, on peut penser que les enképhalines jouent un rôle dans le contrôle de la motricité extrapyramidale. De nombreuses études montrent que l'injection systémique ou intracérébrale de morphine, β endorphine ou d'enképhaline engendre chez le rat un comportement d'hypermotricité précédé par une phase de stupeur. Les sites d'initiation de ces réactions ne sont pas clairement élucidés, d'après PERT et SIVIT (1977) ce serait le système mésolimbique (nucléus accumbens et amygdale) car l'injection d'enképhaline dans le nucléus accumbens provoque les effets typiques des morphiniques.

D'une façon plus générale, la richesse du système limbique en enképhalines et récepteurs pourrait rendre compte des changements d'humeur produits par la morphine et le pouvoir renforçant de celle-ci. La présence d'enképhalines dans les structures pyramidales du cortex apparaît comme une donnée nouvelle mais qui peut expliquer la complexité des effets comportementaux engendrés par la morphine.

Les structures hypothalamiques les plus riches en enképhalines (noyaux supraoptiques, paraventriculaires, éminence médiane), sont les lieux de synthèse et d'activité des neurosécrétions contrôlant la libération des hormones pituitaires. L'activité des morphiniques et des enképhalines à ce niveau est largement démontrée (cf. chapitre 3.2). Les autres structures hypothalamiques (plus postérieurement

situées) contenant des fibres enképhalinergiques sont impliquées dans des connexions avec le système limbique.

Le thalamus montre une répartition diffuse d'enképhalines et de récepteurs qui pourraient avoir un rôle dans l'intégration dans les messages sensoriels.

. De nombreuses structures du tronc cérébral impliquées classiquement dans la transmission et l'intégration des messages douloureux sont riches en enképhalines et en récepteurs : la matière grise périaqueducale (GPA), l'aire entourant le nucléus raphé magnus (NRM) et la substance gélatineuse du noyau spinal du trijumeau, en sont les meilleurs exemples.

. Les enképhalines sont associées à d'autres fonctions sensorielles. Diverses structures ayant un rôle dans l'audition sont riches en corps cellulaires à enképhaline : noyau cochléaire dorsal, le Lemnisque latéral et les pédoncules inférieurs. Les noyaux vestibulaires (VIII) sont très riches en enképhalines, on peut mettre ce fait en parallèle avec les lésions vestibulaires induites par les morphiniques.

La présence d'enképhalines (cellules et fibres) dans les noyaux interpédonculaires pourrait être en rapport avec le rôle olfactif de ce noyau. Cependant les projections de ce dernier, par le tractus de Gudden, vers les noyaux viscéromoteurs de la moelle, permet d'envisager une gamme plus large d'effets des enképhalines à ce niveau.

Les noyaux moteurs de certains nerfs crâniens contiennent des fibres et des terminaisons à enképhaline mais pas de cellules : noyau du grand hypogolsse (XII), noyau du facial (VII), noyau moteur du trijumeau (V) et noyau ambigu.

. Les opiacés ont une activité prononcée sur les fonctions viscérales qui sont régulées par des structures du plancher du quatrième ventricule, certains sites riches en enképhalines jouxtent immédiatement cette région :
  . noyau du tractus solitaire et noyau commissural, impliqués dans les réflexes viscéraux de toux et de vomissement
  . noyau parabrachial qui joue un rôle dans la respiration et la gustation
  . locus coeruleus, celui-ci ne contient que des neurones adrénergiques mais est très riche en récepteurs et sensible aux

endorphines. Il représente physiologiquement le centre pneumotaxique (rythmicité de la respiration)

L'observation de la distribution des enképhalines dans le cerveau et la moelle épinière appelle à plusieurs remarques d'ordre général :

. La distribution des enképhalines comme celle des récepteurs est très large dans le cerveau. Cela doit rendre compte de la grande diversité d'action des morphiniques dans l'organisme.

. Certaines localisations étaient prévisibles en regard des effets pharmacologiques de la morphine (intervention dans les phénomènes douloureux, les réflexes viscéraux) d'autres ne l'étaient pas et ouvrent des champs d'études nouveaux.

L'interaction Morphine-Enképhaline reste un point essentiel à élucider (la morphine se contente-t-elle d'occuper un récepteur post synaptique et de provoquer les mêmes effets que les enképhalines ou bien produit-elle ses effets en interférant avec une sécrétion d'enképhalines ?)
Le rôle des enképhalines est discuté plus en détail plus loin.

b) β Endorphine / β Lipotropine

D'abord isolées de la pituitaire β Endorphine et β Lipotropine ont fait l'objet de moins de travaux quant à leur distribution dans le SNC. Les concentrations dans le cerveau sont faibles et n'ont pas permis l'indentification séquentielle des produits recueillis, cependant d'autres techniques permettent d'affirmer que la β Lipotropine et la β Endorphine y sont présentes.

Les résultats de ROSSIER et al. (1977b) obtenus par RIA montrent d'entrée des différences nettes entre la distribution de β End et des enképhalines. Ainsi chez le rat, on note des concentrations importantes au niveau hypothalamique et septal, par contre les noyaux de la base et l'hippocampe sont dépourvus de β Endorphine (cf. tableau)

REGION EXAMINEE	β ENDORPHINE (ng/g de tissu)
Cerveau entier	108 ± 8
Hypothalamus	490 ± 30
Septum	234 ± 34
Bube et Pont	179 ± 5

Mésencéphale	207 ± 15
Corps striés	-
Hippocampe	-
Cortex	-
Cervelet	-

La difficulté de mise en oeuvre de ces méthodes tient à la possibilité de réactions croisées entre β Endorphine, β Lipotropine, proopiocortine (Big ACHT) et la protéine basique de la myeline.

En recherchant systématiquement la β Lipotropine, KRIEGER et al. (1977a) ont réussi à montrer que celle-ci est présente dans les corps striés et le cortex. La présence de Big ACHT (proopiocortine, précurseur 31K) dans le cerveau n'est pas démontrée encore formellement mais apparait comme probable.

Les études immunohistochimiques ont néanmoins permis de visualiser la distribution de β Endorphine (BLOOM et al. 1978) et de β Lipotropine (WATSON et al. 1977a) ; elles sont en très bon accord.

Les corps cellulaires contenant β Endorphine sont localisés uniquement dans l'hypothalamus basal ; un groupe de cellules se trouve en position dorso latérale au noyau arqué, un autre groupe se trouve situé plus antérieurement et latéralement dans la base de l'hypothalamus ; quelques cellules formaient une ligne continue sur le plancher du troisième ventricule.

Les expansions de ces cellules à β Endorphine dans la base de l'hypothalamus sont concentrées dans les structures axiales adjacentes aux surfaces ventriculaires.

Dans l'hypothalamus antérieur, les fibres sont denses, spécialement dans la strie terminale. Les noyaux supra optiques, paraventriculaires et supra chiasmatiques sont innervés, de même que l'éminence médiane.
Les autres zones recevant des afférences à β Endorphine sont le locus coeruleus, le raphé dorsal, les structures axiales de la matière grise périaqueducale (thalamique et pontique) et tout particulièrement le noyau paraventriculaire antérieur.

Dans certaines conditions on a pu montrer une immunoréactivité dans d'autres structures notamment le cortex limbique, l'hippocampe, le cervelet, le cortex prepyriforme et rhinencéphalique. Les résultats sont cependant sujets à caution en raison de la réactivité croisée avec la protéine basique de la myéline.

La distribution de β Lipotropine / β Endorphine est fort différente de celle des enképhalines ; pour exemple, les zones les plus riches en enképhalines (globus pallidus et noyau central de l'amygdale) sont dépourvues de β Endorphine. A ce stade, il est utile de se demander si la Met enképhaline peut dériver de la β End. La distribution des deux peptides est fort différente mais un taux de conversion très rapide de β End en Met Enk, pourrait expliquer que l'on ne puisse les visualiser ensemble dans les mêmes cellules. Dans ces conditions on devrait néanmoins pouvoir localiser de la Met Enk dans des cellules contenant ACTH (si β End et ACTH dérivent toutes deux de 31 κ), cela ne semble pas être le cas.

Nous serons amenés à considérer qu'il existe deux systèmes individualisés au niveau anatomique et fonctionnel (voir 2.5) :

. un système à enképhalines
. un système à β Lipotropine / β Endorphine

2.3.2 AU NIVEAU HYPOPHYSAIRE

Des concentrations très élevées de β Endorphine sont présentes dans la pituitaire de nombreuses espèces (ROSSIER et al., 1977a). BLOOM et al. (1977a) montrent qu'elle est localisée à de très nombreuses cellules du lobe intermédiaire et dans quelques cellules disséminées du lobe antérieur. Ces mêmes cellules sont marquées par un sérum anti ACTH ou anti β LPH, leur biosynthèse a déjà fait l'objet d'un exposé (cf. 2.2.1)

La mise en évidence des enképhalines a produit des résultats discordants, RUBINSTEIN et al. (1977a) n'ayant pu détecter que de la Met Enképhaline alors que ROSSIER et al. (1977b et 1979) dosent la Leu Enképhaline ; la répartition des deux peptides est certainement différente ici.

En outre, on peut distinguer deux types de localisation par le Met Enk :
. dans des cellules de la pituitaire antérieure (DUKA et al., 1978) où elle serait même associée à des cellules produisant l'hormone de croissance (WEBER et al., 1978)
. Dans les fibres de la pars nervosa du lobe neuro intermédiaire (RUBINSTEIN et al., 1977a)

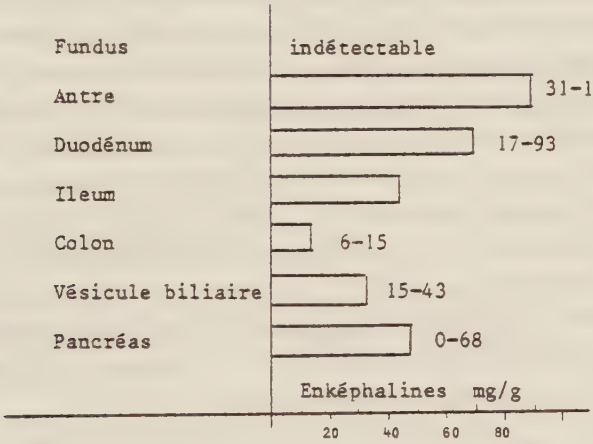
ROSSIER et al. (1979) montrent que la Leu Enk est contenue dans des éléments nerveux qui projettent de l'hypothalamus à la pars nervosa.

En confirmation de ce qui a été vu pour le cerveau, la répartition de β Endorphine dans la pituitaire est différente de celle des enképhalines.

2.3.3 DISTRIBUTION DES ENDORPHINES AU NIVEAU DU TRACTUS DIGESTIF

La mise en évidence de récepteurs au niveau de l'intestin de nombreuses espèces (cf. préparation iléon de cobaye) et notamment de l'homme (HOLLT & WUSTER, 1978) a conduit plusieurs équipes à rechercher les enképhalines du tractus digestif.

Par des techniques de RIA, POLAK et al. (1977) ont pu doser les enképhalines à divers niveaux du tractus digestif de l'homme ; leur résultats indiquent une forte concentration au niveau gastrique (voir tableau ci-dessous). Des travaux semblables ont été menés chez le rat (ELDE et al., 1976), ils révèlent un taux maximal au niveau du colon ; chez le cobaye SMITH et al. (1976) montrent que c'est le duodénum le segment le plus riche en enképhalines.



En Immunofluorescence, MILLER et CUATRECASAS (1978) ont pu observer la localisation précise des enképhalines dans le tube du digestif de cobaye.

- l'œsophage présente un immunofluorescence faible
- l'estomac montre des fibres à enképhalines (Met-Enképhaline surtout) dans la paroi musculaire externe.
- au niveau de l'intestin grêle, les fibres à enképhalines forment un réseau dense dans le plexus de Meissner et sont présentes dans la couche musculaire circulaire ; à l'occasion ces fibres peuvent être observées dans le plexus d'Auerbach.
- le cœcum est dépourvu d'enképhalines
- le colon présente une immunofluorescence prononcée dans sa couche musculaire circulaire ; une répartition très accentuée au niveau du rectum
- la paroi de la vésicule biliaire et du canal biliaire montrent des fibres enképhalinergiques.

Les études de POLAK chez l'homme ont de plus montré la présence d'enképhalines dans des cellules de la partie moyenne de la muqueuse. Ces cellules sont des cellules endocrines qui secrètent la gastrine ; cette observation conduit à considérer les enképhalines comme des hormones intestinales et suggère la possibilité d'une voie de synthèse différente à ce niveau (liée à la gastrine). Ils montrent également que les cellules de type B des Ilots de Langherans (pancréas endocrine) contiennent des enképhalines.

La dualité de la répartition des enképhalines entre des éléments neuronaux (neurones du cerveau, de la moelle épinière, du plexus de Meissner) et des cellules typiques endocriniennes (cellules entérochromaffines, cellules de la médullo surrénale, des Ilots de Langherans), rapproche les enképhalines des nombreux autres peptides à localisation intestinale et cérébrale. PEARSE (1968) observe que les neurones et les cellules produisant des hormones polypeptidiques présentaient des caractères cytologiques communs, il formule la théorie APUD (amine precursor uptake and decarboxylation) ; cette théorie révisée récemment d'après les données de Le Douarin, stipule que toutes les cellules produisant des hormones peptidiques sont dérivées du neurectoderme, comme le sont les neurones. On peut ainsi s'expliquer de retrouver gastrine cholécystokinine, v.i.p. (vaso-intestinal peptide), g.i.p. (gastric inhibitory peptide) et sécritine dans le système nerveux central ; inversement neurotensine, substance P, somatostatine, caeruleine, ... peuvent être rencontrées dans le tube digestif (PEARSE, 1976).

2.4 INTÉRACTIONS AVEC D'AUTRES SYSTÈMES DE NEUROTRANSMISSION

2.4.1 ① SYSTEME DOPAMINERGIQUE

Les zones de chevauchement entre enképhalines et dopamine sont étendues et comprennent : le nucléus accumbens, l'hypothalamus de la base, le noyau central de l'amygdale et les corps striés.

POLLARD & al. (1977) ont montré la présence de récepteurs morphiniques sur des neurones dopaminergiques des corps striés ; un éventuel rôle de ces récepteurs dans le contrôle du métabolisme ou de la libération de dopamine reste à établir.

LOH & al. (1976b) montrent in vitro que la β End inhibe la libération de dopamine induite par stimulation électrique du striatum ; cet effet est inhibé par la Naloxone in vivo, FERLAND & al. (1977) ont montré que les peptides opiacés réduisent le turn over de la dopamine dans l'hypothalamus. Inversement, les antagonistes de la dopamine haloperidol, chlorpromazine et clozapine, en traitement chronique, élèvent le taux de Met Enk dans les corps striés (HONG & al. 1977b).

2.4.2 ② SYSTEME ADRENERGIQUE

L'exemple d'interaction le plus classique est constitué par le canal déférent de souris où les enképhalines produisent une libération diminuée de Nor adrénaline lorsque la préparation est stimulée (WATERFIELD & al., 1977). Dans le SNC, la libération induite de Nor épinéphrine sur des tranches hypothalamiques peut être inhibée par le Met Enk.

2.4.3 ③ SYSTEME CHOLINERGIQUE

Dans la préparation iléon de cobaye (cf. chapitre 3.1.3) les endorphines déprimment la libération d'acétyl choline produite par stimulation coaxiale.

Au niveau central, JHAMANDAS & al. (1974) montrent que la libération spontanée d'Ach par le cortex du rat est déprimée par l'injection de β End. MORONI & al. (1977) observent une forte diminution du turn over de l'Ach dans diverses structures cérébrales (cortex, hippocampe, nucléus accumbens et globus pallidus) après injection ICV de β End.

2.4.4 AUTRES NEUROTRANSMETTEURS HYPOTHETIQUES

Nous avions déjà évoqué les interactions du système enképhalinergique avec d'autres peptides à rôle de neurotransmetteur supposé, substance P et Neurotensine. Au niveau périphérique les interactions pourraient avoir lieu avec d'autres peptides mais dans un contexte de type plutôt endocrinien et local (hormones de type Paracrine de FEYRTER).

2.5 DÉFINITION DE DEUX SYSTÈMES ENDORPHINIQUES

Le système β Endorphine - β Lipotropine apparaît comme un système endocrinien classique. La stabilité métabolique de ces peptides, leur forte concentration hypophysaire et hypothalamique, leur libération concomitante à celle d'ACTH au cours de stress, s'accordent bien à cette image.

Ces données n'excluent évidemment pas un rôle central de la β End notamment dans l'analgésie et la génèse des émotions dans le système limbique. Les conditions d'activation de ce système sont inconnues mais semblent souvent associées à des conditions pathologiques ou de stress.

Les enképhalines correspondent mieux à la définition de neurotransmetteurs ou de neuromodulateurs, c'est à dire qu'elles influent sur la transmission synaptique. Il reste à établir si les enképhalines sont contenues dans des neurones enképhalinergiques ou si elles sont associées à d'autres neurotransmetteurs, à l'intérieur de neurones polyvalents.

Leur rôle est-il celui de la transmission synaptique (neurotransmetteur) ou bien du contrôle en retour à la sécrétion d'un autre neurotransmetteur (neuromodulateur) ?

L'hypothèse de HUGUES (1978) est que les enképhalines pourraient jouer les deux rôles. En effet, certains faits expérimentaux les font apparaître comme des neuromédiateurs typiques :

- localisation dans les terminaisons nerveuses (observée dans les études d'immunofluorescence)
- action dépressive directe observée par microiontophorèse de Met Enk à diverses cellules nerveuses (HILL & al., 1976).

Cet effet est antagonisé par le Naloxone en partie. DAVIES et DRAY (1976) ont montré un effet excitateur sur des cellules de RENSHAW mais dans la plupart des cas l'effet est inhibiteur ; il s'exerce en tout cas de façon "post synaptique".

Le mécanisme intime de l'action des enképhalines sur leur neurones cibles n'étant pas connu, l'argument le plus pesant pour dire qu'elles n'exercent pas un rôle de transmetteur est l'observation de l'innocuité presque parfaite du Naloxone en injection à des animaux de laboratoire. Le Naloxone bloque l'action des enképhalines mais ne provoque

pas d'effets dramatiques, les enképhalines ne seraient donc pas impliquées en tant qu'effecteurs mais plutôt en tant qu'agents de régulation.

La distinction entre système endocrinien à β Endorphine et système neuronal (et neuroendocrinien) à enképhalines est artificielle. Il faut remarquer, en effet, qu'il existe des enképhalines circulantes dans le sang et le LCR ; de plus, on a pu localier des enképhalines dans des cellules de type sécrétoire (cellules à gastrine, au niveau du tube digestif (cf. dito).

Pour la commodité de l'exposé nous conserverons néanmoins cette distinction classique, la "nouvelle endocrinologie du neurone" (R. GUILLEMIN, 1978) n'en étant qu'à ses débuts.

I - PARTICIPATION des ENDORPHINES aux FONCTIONS ORGANIQUES

3.1 ACTIONS GASTRO INTESTINALES DES ENDORPHINES

L'action constipante de la morphine est connue depuis fort longtemps, la présence d'enképhalines dans les structures du tube digestif permet de jeter les bases de l'explication physiologique.

3.1.1 ACTIVITE SECRETOIRE

a) Estomac

Sur des chiens non anesthésiés, équipés de fistules gastriques (MAGEE, 1975) met en évidence un rôle renforçant de la morphine sur la sécrétion acide : taux de base et sécrétion induite par l'histamine sont augmentés.

La réponse sécrétoire d'acide et de pepsine en réponse à la gastrine est par contre diminuée. KONTUREK & al. (1978a) notent l'action de la Met Enk perfusée par voie artérielle à l'estomac de chien ; les sécrétions d'acide et de pepsine induites par l'histamine sont augmentées, de même que la sécrétion acide induite par la gastrine ou un repas alimentaire.

L'action excito sécrétoire au niveau stomacal semble bien établie, la relation avec la libération de pentagastrine reste inconnue pour le moment.

b) Pancréas

KONTUREK & al. (1978b) ont montré que la morphine et la Met Enk (perfusées à la dose de 40 µg/kg au pancréas isolé de chien) sont capables de s'opposer à la sécrétion des sucs pancréatiques hydro-électrolytique (bicarbonate) et protidique (enzymes) évoquée par divers stimuli.

Les réponses observées à des stimuli endogènes, infusion duodénale de Hcl ou d'acides aminés (tryptophare + phénylalanine) sont fortement inhibées. Les stimuli exogènes (infusion de sécrétine ou de CCK) sont moins affectés par l'adjonction de morphine. Cet effet correspondrait, en partie, à une diminution des réflexes cholinergiques entéro-pancréatiques mis en jeu dans la libération des sucs pancréatiques et d'autre part, à une sensibilité altérée des cellules cibles de la sécrétine.

3.1.2 ACTIVITE MOTRICE

Elle est sujette à de très fortes différences interspécifiques bien que l'effet constipant soit de règle. La plupart des résultats ont été obtenus chez l'homme et le chien ; le cas de l'intestin de cobaye est très particulier et fera l'objet d'un paragraphe en fin de chapitre.

a) Effets pharmacologiques de la morphine et de la Met Enképhaline

Ils ont été décrits en détail par AMBINDER et SCHUSTER (1979) et seront repris selon leurs données.

. *Au niveau œsophagien : il y a dilatation du tiers distal de l'oesophage chez l'homme après administration de morphine mais les résultats ne sont pas transposables aux animaux domestiques en raison des grandes différences histologiques. Il y aurait une contraction du sphincter œsophagien chez le chat.*

. *L'estomac est le siège de phénomènes moteurs uniquement au niveau antral ; la morphine et la Met Enk, chez le chien, provoquent une augmentation de l'amplitude et de la force des contractions gastriques associées à une diminution de fréquence. Ces effets sont suivis d'une période de distension et d'apéristaltimes (SILBIGER et al. 1968 ; KOUTUREK et al., 1978a).*

La vidange de l'estomac est retardée non par une pylorospasme mais par une contraction duodénale.

. *Le duodénum est le siège de contractions violentes dans sa moitié distale pendant 10 à 15 minutes puis d'une longue période de distension (jusqu'à mégaduodénum). Les effets excito moteurs de la morphine i.v. sur le duodénum apparaissent instantanément et précèdent l'hypercinésie gastrique, ce qui fait penser à un effet central (cf. plus loin).*

. *Les effets sur le jejunum sont qualitativement semblables mais plus lents à se manifester et s'atténuent sur toute la longueur de l'organe.*

. *A une hausse initiale du tonus iléal, fait suite une baisse prolongée, l'administration de baryum avant le traitement morphinique permet de voir en radiologie des images de type haustration.*

Ce dernier point, associé à d'autres études radiologiques (KREUGER, 1937) et à la récolte diminuée d'effluents iléaux chez des hommes sur lesquels des iléostomies ont été pratiquées (ADLER et al., 1942) montre bien la nature non propulsive de l'hypercinésie enregistrée sur l'intestin grêle. Une absorption accrue a, par contre, été souvent démontrée, elle peut conduire à des intoxications chimiques (KRENGER, 1937) ; une diarrhée infectieuse peut être prolongée par l'administration de morphine.

. *Au niveau du colon*

Une augmentation de la pression intraluminale survient rapidement après administration de morphine ; surviennent ensuite des vagues de pressions élevées, localisées et non propagées, en divers segments du colon. Cette activité segmentaire, dûe à une activation préférentielle des fibres circulaires (RINALDO, 1971), est considérée comme la composante principale de l'action constipante de la morphine (PAINTER et al., 1964)

Chez les hommes atteints de diverticule colique, les effets de la morphine sont exagérés au voisinage des diverticules et peuvent les aggraver jusqu'à perforation. Un désordre enképhalinergique pourrait intervenir dans leur génèse.

. *Les sphinters anaux du chien et du chat, subissent une contraction prolongée en réponse à la morphine.*

Un autre effet classiquement décrit chez l'homme est un spasme des voies biliaires ; des coliques biliaires ou une détresse épigastrique peuvent survenir.

b) Site d'action des opioïdes sur la motricité intestinale

La question de la prédominence d'un site d'action central ou périphérique de la morphine n'est pas résolue. Les arguments en faveur d'une action centrale sont que les effets constipants apparaissent pour des doses faibles (il faut 206 fois plus de morphine par voie i.v. ou i.p. que par voie i.c.v. pour obtenir les mêmes effets, COWAN & al., 1976). D'autre part, l'étude de BUENO et RUCHEBUSH (1978) sur l'activité myoélectrique autro duodéno jéjunale de la brebis, met en évidence la nécessité de l'intégrité de la voie vagale pour l'obtention d'une réponse complète et coordonnée.

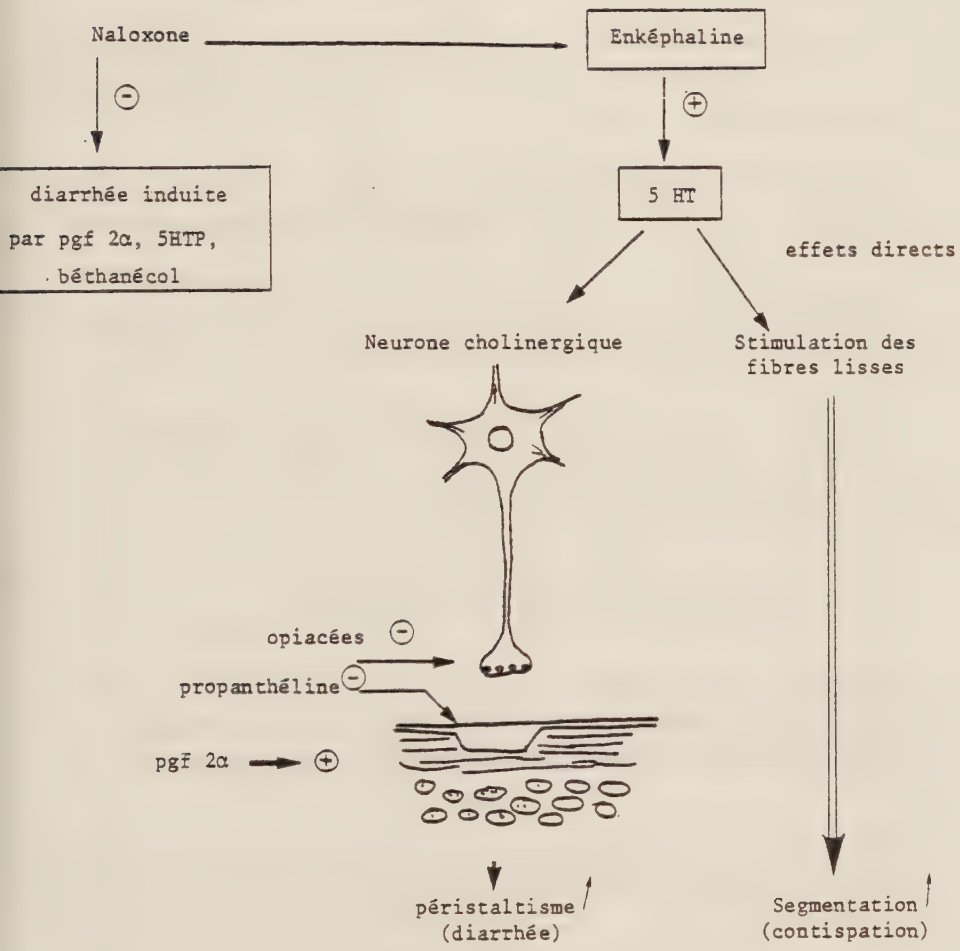
En revanche, l'action locale est étayée par l'activité prononcée du Lopéramide (Imodium), une substance qui se lie aux récepteurs morphiniques, produit les effets caractéristiques des morphiniques sur l'iléon de cobaye mais ne traverse pas la barrière hématoméningée (STAHL & al., 1977).

c) Mode d'action et rôle physiologique des enképhalines

BURKS (1973) a montré que l'action spasmogénique de la morphine était dûe à une libération accrue de sérotonine (= 5 hydroxy tryptamine, 5HT).
Celle-ci agit directement sur les fibres lisses et indirectement sur les fibres circulaires et lisses en augmentant la sécrétion d'Ach ; l'action directe de la 5 HT peut expliquer l'action excito motrice segmentaire de la morphine, l'activité différentielle des fibres circulaires et longitudinales étant responsable du caractère non propulsif de cette stimulation.

L'observation du rôle inhibiteur du Naloxone sur des diarrhées induites chez la souris par PGF 2 α , 5HT et métacholine a conduit DAJANI & al. (1979) à dresser un tableau des interactions sérotoninergiques et cholinergiques qui rend compte du rôle des opiacés dans de contrôle de l'activité motrice du petit intestin.

Ce schéma n'envisage pas les modifications sécrétoires induites par ces divers agents mais laisse entrevoir des possibilités thérapeutiques (ex. : l'emploi de cyproheptidine, un agent anti 5HT, dans la constipation post morphinique).


Naloxone
Enképhaline
diarrhée induite
par pgf 2α, 5HTP,
béthanécol
5 HT
effets directs
Neurone cholinergique
Stimulation des
fibres lisses
opiacées
propanthéline
pgf 2α
péristaltisme
(diarrhée)
Segmentation
(contispation)

3.1.3 LES ENKEPHALINES DANS L'INTESTIN DE COBAYE

Le cobaye est la seule espèce chez laquelle la morphine provoque une inhibition du tonus et de la contractilité intestinale, surtout marquée au niveau iléal.

Ces effets sont dûs à une diminution de la libération d'acétyl choline par les fibrilles post glanglionaires qui innervent le muscle (WATERFIELD & KOSTERLITZ, 1974).

La Leu Enképhaline et la Met Enképhaline produisent les mêmes effets (MITZNEGG & al., 1977) ; elles sont libérées in vitro par stimulation de champ ou stimulation coaxiale.

Le Naloxone augmente la fréquence des vagues péristaltiques iléales sur l'iléon isolé in vitro (KROMER & PRETZLAFF, 1979).

Ces résultats confirment la spécificité de l'action des enképhalines au niveau de l'iléon de cobaye et justifient amplement son utilisation comme preuve de l'activité morphinique d'une substance.

3.2 ACTIONS NEURO ENDOCRINIENNES DES ENKÉPHALINES

Les structures hypothalamiques qui controlent la libération des hormones antéhypophysaires sont riches en enképhalines. Les lobes antérieurs et neuro intermédiaires de l'hypophyse montrent des concentrations plus élevées.

L'étude de KUMAR & al. (1979) menée au Collège vétérinaire de Gainesville a permis de mettre en évidence des variations du taux de Met Enképhaline au cours de cycle œstral (voir plus loin) ; ces données impliquent une participation tonique des enképhalines dans les équilibres hormonaux et de nombreuses équipes se sont mises en quête de démêler les intéractions nécessairement complexes qui existent à ce niveau.

3.2.1 SUR LES SECRETIONS DE L'HYPOPHYSE ANTERIEURE

Les travaux de BRUNI & al. (1977) ont consisté à observer les effets de la morphine, de la Met Enk et du Naloxone par voie générale sur les taux sériques des hormones antihypophysaires.

Les résultats qu'ils obtiennent peuvent se schématiser ainsi :

	P.R.L.	G.H.	L.H.	F.S.H.	T.S.H.
Morphine 10 mg/kg	↑	↑↑↑	↓↓	0	↓↓
Met Enképhaline 5 mg/kg	0	↑↑	↓	0	↓↓
Naloxone 5 mg/kg	↓↓	↓	↑↑	↑	0

P.R.L. = Prolactine
G.H. = Hormone de croissance
L.H . = Hormone lutéinale

Ces résultats sont en bon accord avec les données sécrétion par d'autres. L'action du Naloxone sur diverses sécrétions est néanmoins contestée dans d'autres études.

a) Prolactine (PRL) et hormone de croissance (G.H.)

Les analogies structurales de ces deux peptides font qu'il ont longtemps été confondus ; ils ont fait l'objet de nombreuses études couplées dont nous présenterons ici les résultats.

In vivo

- La morphine par voie générale (BRUNI & al., 1977 ; MARTIN & al, 1975) ou par voie ventriculaire (COCCHI & al., 1977) , stimule la sécrétion de G.H. et PRL. L'effet observé est antagonisé par le Naloxone pour voie générale.
- la β Endorphine exerce les mêmes effets de stimulation (RIVIER & al., 1977) ou par voie ventriculaire ou intrahypothalamique (GRANDISON & GUIDOTTI, 1977).
- Dans le cas des enképhalines les résultats sont plus disparates, les meilleurs résultats semblent être obtenus sur des rats nouveau-nés plutôt que sur des adultes ; les doses à injecter sont élevées

La Leu Enk, 100 µg par voie i.c.v., peut quadrupler le taux de G.H. et P.R.L. d'animaux jeunes (COCCHI & al., 1977).

La Met Enk, 500 µg en i.c.v., produit une augmentation des taux sériques de GH et PRL (DUPONT & al., 1977b).

Les analogues d'enképhalines (D Ala^2 Met Enképhaline, Met Enképhalinamide) par voie i.v.c. montrent une activité bien supérieure

à la Met Enképhaline (CUSAN & al., 1977).

Une étude clinique menée sur 40 volontaires humains avec le FK 33-824 (Ty2 - D Ala - Gly - Me Phe - NH(CH$_2$OH) CH CH$_2$ CH$_2$ - S(O) - Met) par voie i.m. ou i.v. montre les mêmes résultats. Par contre l'action observée n'était pas antagonisée par la Nalorphine (VON GRAFFENRIED, 1978).

- L'action des antagonistes est fort controversielle dans la littérature. Un certain nombre d'études (DUPONT & al., 1977a et b ; LIEN & al., 1976) font état d'un antagonisme du Naloxone vis à vis de la libération de PRL et GH, induite par les enképhalines.

  De plus GRANDISON et GUIDOTTI (1977) ainsi que BRUNI & al. (1977) montrent une action frénatrice du Naloxone sur les taux de base de GH et PRL.

  Ces derniers faits font penser à une action spécifique et tonique des enképhalines dans la libération de GH et PRL. Néanmoins des résultats négatifs ont été obtenus par COCCHI & al. (1977) et par TANNENBAUM & al. (1979) dans le cas de G.H. Ces auteurs montrent que Naloxone, Naltrexone et sérum anti β endorphine sont incapables de modifier les taux et la rythmicité de la sécrétion de G.H. (de nombreux résultats positifs auraient pu être obtenus en négligeant le caractère pulsatile de la sécrétion de G.H.).

  Le mécanisme de l'action des enképhalines serait différent dans le cas de G.H. et P.R.L.

- Les études menées <u>in vitro</u> sur l'hypophyse isolée, ont été incapables de mettre en évidence une action de la β endorphine (RIVIER & al., 1977) ou de la D Ala^2 Met Enképhaline (SHAAR & al., 1977) sur la libération de G.H. On doit donc penser que l'activité stimulante des enképhalines observée <u>in vivo</u> relève d'un site d'action hypothalamique. L'observation anatomique de WEBER & al. (1978) qui localise enképhalines et G.H. dans les mêmes cellules antehypophysaires, incite néanmoins à une révision de la question. Les résultats <u>in vivo</u> de TANNENBAUM & al. (1979) suggèrent que les endorphines ne seraient mises en jeu ici qu'en réponse à des conditions de stress.

- La sécrétion de PRL est sous le contrôle inhibiteur des neurones dopaminergiques tubéro infundibulaires (MAC LEOD, 1976), la dopaminémie de sang portal hypophysaire semble capable de maintenir l'inhibition de la sécrétion de PRL (GIBBS & NEILL, 1978).

Les enképhalines diminuent nettement la libération de dopamine par les neurones tubéro infundibulaires (GUDELSKY & PORTER, 1979) et cela pourrait expliquer leur action en partie.

Dans le cas de la prolactine il existe une étude in vitro faisant preuve de la libération accrue de PRL par l'hypophyse isolée en réponse à la Leu Enk (LIEN & al., 1976).

On peut donc penser que l'action des endorphines sur la libération de PRL est mixte : hypothalamique et hypophysaire.

b) Hormone de stimulation thyroïdienne T.S.H.

Les effets des morphiniques au niveau thyroïdien sont connus depuis longtemps, ils se traduisent par une diminution du poids corporel, du poids de la glande thyroïde, accompagnée d'une réduction de la concentration en T.S.H. de la pituitaire et du sang (LOMAX, 1975). LOMAX & GEORGE (1966) pensent que l'action de la morphine serait, dans le cas de T.S.H., une stimulation de neurones inhibiteurs dans l'hypothalamus postérieur plutôt que l'inhibition des neurones du thalamus antérieur. BRUNI & al. (1977) ont confirmé l'activité en enképhalines à ce niveau.

c) Gonadotrophines F.S.H. et L.H.

L'action sexuelle des morphiniques est bien documentée mais ne recevait pas d'explication vraiment satisfaisante, l'intervention des enképhalines dans la régulation du taux des hormones sexuelles jette un jour nouveau sur ces questions.

On savait que la morphine est capable de bloquer l'ovulation, CICERO (1976) a montré que de la même manière les enképhalines bloquent la libération de L.H. et l'ovulation chez la rate. Les variations du taux des enképhalines au cours du cycle oestral rapportées par KUMAR et al. (1979) sont résumées ci-dessous :

	taux moyen	En fonction du stade oestral
Hypophyse		
Lobe intermédiaire et postérieur	très élevé	stable
Lobe antérieur	élevé	oestrus \ proestrus ↑↑↑
Hypothalamus		
Aire préoptique-hypothalamique antérieure	faible	oestrus \
Aire médiobasale de l'hypothalamus	faible	oestrus \

La diminution du taux d'enképhalines au moment de l'oestrus pourrait être liée au pic de L.H qui déclenche celui-ci.

Les effets des morphiniques sur l'appareil génital mâle se traduisent :

- par une diminution importante du taux de testostérone
- par des altérations des vésicules seminales et de la prostate (diminution de poids et de l'activité sécrétoire). Ces altérations surviennent rapidement ce qui les différencie de la castration.

Tous ces phénomènes commencent à recevoir une explication cohérente par l'action des enképhalines au niveau hypothalamique. Depuis que SCHALLY (1971) a postulé que la LHRH représente la commande unique à la libération de FSH et LH on a montré un très fort effet d'espèce quant à son action (elle libère beaucoup l'une ou l'autre hormone selon l'espèce), chez la rate elle libère beaucoup de LH et peu de FSH.

Ces faits sont en accord avec les résultats de BRUNI & al. (1977, voir plus haut) ; on a en effet montré que l'action des enképhalines sur la libération des gonadotrophines se fait pas l'inhibition de la libération de LHRH au niveau de l'hypothalamus médiobasal (ROTSZTEJN, 1978). Ces auteurs montrent que la Met Enk s'oppose à l'effet stimulatoire de la dopamine sur la libération de LHRH in vitro et concluent que cette action se situe au niveau post synaptique ; dopamine et Met Enk agiraient en parallèle sur les mêmes neurones contenant la LHRH.

Les effets physiques que nous avons cités plus haut peuvent être expliqués en termes de variation du taux des gonadotrophines.

L'effet anti LHRH des enképhalines pourrait rendre compte de leur action sur le comportement sexuel. PELLIGRINI - QUARANTOTTI & al. (1978) ont observé une abolition du comportement copulatoire chez les rats après administration de Met Enk (un effet qui resemble à ceux classiquement décrits pour la morphine) ; or l'action excitatrice de LHRH sur le comportement sexuel est bien établie (MOSS et Mc CANN, 1973).

Les travaux concernant le rôle endocrinien des enképhalines n'en sont qu'à leurs débuts mais il semble que ce doit être dans ce domaine que les enképhalines puissent recevoir des applications thérapeutiques ou zootechniques. La mise au point d'analogues à action spécifiquement endocrinienne apparaît possible (CUSAN et al., 1977), comme elle l'a été pour d'autres neurosécrétions peptidiques (LHRH, somotastatine).

3.2.2 SUR LES SECRETIONS POST HYPOPHYSAIRES

Les hormones post hypophysaires vasopressine et ocytocine sont libérées dans le torrent circulatoire par un mécanisme commun.

Les chercheurs du Salk Institute (ROSSIER et al., 1979) ont observé par immuhistochimie que des neurones à Leu Enk de la pars nervosa du rat ont un trajet parallèle aux neurones magnocellulaires des noyaux supra optiques (NSO) et para ventriculaires (NPV) qui sécrètent ces hormones. Les lésions du NSO et du NPV provoquent une chute du taux d'enképhalines de la pars nervosa.

Du point de vue fonctionnel, ils notent que la déshydratation (régime salé à 2 %) provoque une baisse de 60 % du taux d'enképhaline dans le lobe neuro-intermédiaire, sans qu'il y ait libération dans le sang. L'observation des rats de la souche Brattleboro a fourni des résultats concordants ; les individus homozygotes sont spontanément polydipsiques, incapables de sécréter de la vasopressine, ils possèdent un taux de Leu Enképhaline égal au tiers (33 %) de leurs congénères hétérozygotes.

L'injection de morphine libère de la vasopressine (DE BODO, 1944). Il pourrait donc y avoir un contrôle direct de la libération d'ocytocine et vasopressine par les neurones à enképhaline de la pars nervosa.

3.3 ACTIONS ENDOCRINIENNES (OU À PARTICIPATION ENDOCRINIENNE) DE LA ß ENDORPHINE

3.3.1 HORMONE PLACENTAIRE

La présence de ß Endorphine dans le placenta humain a d'abord été signalée par NAKAI et al. (1978). Peu de temps après VALETTE et al. (1979) ont montré la présence de récepteurs placentaires qui se développent entre le 3ème et le 5ème mois de gestation.

Les résultats obtenus depuis montrent que :

. La ß End est synthétisée dans le placenta à partir du même précurseur 31 K que dans l'hypophyse (ODAGIRI et al., 1979)

. Plus récemment SASTRY et al. (1980) ont montré que les villosités placentaires de la femme contiennent, en plus de la ß End, de la Met Enk (mais pas de Leu Enk). La distribution de la Met Enk n'est pas homogène et se superpose à celle de l'acétyl choline.

. Les taux plasmatiques de ß End sont élevés chez les femmes gestantes (AKIL et al., 1979) et particulièrement au moment de l'accouchement ; CSARTOS et al. (1979) ont noté que les taux plasmatiques veineux de la mère sont bien supérieurs aux taux artériaux et veineux dans l'ombilic.

La majeure partie de la ß End placentaire serait donc libérée du côté maternel ; le foetus étant, par ailleurs, capable de synthétiser sa propre endorphine (SILMAN et al., 1978).

3.3.2 PANCREAS ENDOCRINE

L'action hyperglycémiante de la morphine est connu depuis fort longtemps (ROSS, 1918). De nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer cette action, FELDBERG & SHALIGRAM (1974) font appel à la libération d'adrénaline de la médullo surrénale en réponse à la stimulation centrale des structures du 4ème ventricule. La découverte d'endorphines dans les Ilots de Langherans et d'une activité in vitro de celle-ci a conduit à de nouvelles hypothèses.

IPP et al., (1978) montrent que la perfusion de morphine ou de β End à un pancréas isolé de chien provoque des variations des taux d'hormones pancréatiques. En clair, la β endorphine semble lever le frein exercé par la somatostatine (cellules D des Ilots de Langherans) sur la libération de glucagon et d'insuline.

Les résultats in vivo n'ont pas confirmé ce schéma, TANNENBAUM et al. (1979) ont montré que l'injection de sérum anti β End, de Naloxone ou de Naltroxone, ne mofifiait pas le taux d'insuline ; l'injection d'un analogue d'enképhaline à des humains (STUBBS, 1978) a provoqué une baisse du taux de glucagon et hypoglycémie. La β End pancréatique se trouve dans les cellules à glucagon (GRUBE, 1978) et on peut envisager pour celle-ci un rôle local (hormone de type paracrine), peu sensible dans des conditions physiologiques à un traitement systémique. La participation des endorphines pourrait être beaucoup plus nette dans certaines instances pathologiques (diabètes insulino résistants).

3.3.3 COMPORTEMENT ALIMENTAIRE ET DIPSIQUE

La morphine accroît la prise de nourriture spontanée chez le rat en captivité. GRANDISON et GUIDETTI (1977b) ont montré que la β End avait la même action en micro-injection hypothalamique.

Cette action pourrait être physiologique car le Naloxone, à l'opposé, diminue la consommation alimentaire (HOLTZMAN 1974, 1979). MARGULES et al. (1978) ont observé des taux particulièrement élevés de β End chez les souris homozygotes de race obèse (ob/ob) et ont proposé une théorie de l'obésité dans laquelle le rôle endocrinien de β End serait prépondérant avec des actions centrales, gastrointestinales et pancréatiques (stimulation de l'appétit par l'insuline). Cette théorie a été formellement contredite par l'équipe de GUILLEMIN (ROSSIER et al., 1979) qui montrent que le poids et les sécrétions hypophysaires chez les souris ob/ob sont nettement modifiés mais que l'augmentation des taux de β End n'est manifeste que plusieurs mois après l'apparition du syndrôme obésité ; la β End ne peut donc en aucun cas participer à la génèse du phénomène. A l'opposé l'augmentation du taux de Leu Enk dans le lobe neuro intermédiaire qu'ils observent, est bien corellée à l'augmentation de poids.

Le comportement hydrique est également déprimé par l'injection de Naloxone (HOLTZMAN, 1979) ; en contradiction apparente DE CARO et al. (1979) ont montré que l'injection de Met Enk et de Leu Enk i.c.v. produisait la même chute du comportement dipsique. La participation physiologique des enképhalines au niveau neuro endocrinien semble bien établie (ROSSIER et al., 1979, voir plus haut), mais ce mode d'action reste enigmatique, DE CARO et al. proposent une hypothèse sensorielle.

D'autres équipes (BISSET et al. 1978) ont confirmé l'action antidiurétique des enképhalines. HUIDOBRO - TORO et al. (1979) notent que la composition des urines chez des rats traités aux enképhalines est riche en Na^+ et κ^+ et diffère donc de la composition d'urines recueillies après vasopressine. Ils concluent que l'action antidiurétique des enképhalines ne s'exerce pas (ou pas seulement) au niveau hypophysaire mais qu'une participation rénale doit exister.

3.3.4 ENDORPHINES ET THERMOREGULATION

Les drogues opiacées produisent des variations de la température centrale qui, à fortes doses, sont toujours du type hypothermie (LOMAX, 1970). Ce type d'action a été retrouvé pour les endorphines par LAL et al. (1976) qui de plus montrent que l'injection de Naloxone empêche l'extériorisation d'une hyperthemie conditionnée chez le rat.

HOLADAY et al. (1978) montrent que, chez des rats soumis à des températures ambiantes élevées (37,7°C), l'injection de Naloxone produit une hyperthermie rapide, accompagnée d'un comportement de fuite accru et d'une perte de poids ; l'hypophysectomie diminue nettement ces réactions. Ces auteurs pensent que le système β Endorphinergique est spécifiquement activé par les stress à la chaleur (et non pas au froid), qu'il agirait en diminuant la sensation de chaleur. Ainsi, à faibles doses, les morphiniques mais spécialement la β End induisent des frissons musculaires (Wet dog shakes) - réponse de type hyperthermisante ; l'augmentation des doses produit un état de catalepsie dans lequel l'animal est incapable d'extérioriser un comportement hyperthermisant, la température centrale diminue alors.

Certains faits expérimentaux viennent en appui à cette théorie :

- Les rats tolérants à la morphine montrent une température rectale significativement augmentée (GUNNE, 1960).
  Ces rats sont donc tolérants à l'effet hypothermisant des morphiniques.

- Les rats tolérants à la morphine, exposés accidentellement à des températures élevées, sont incapables de s'adapter et meurent (WEI, 1973).

Les faits anatomiques sont également convaincants. Ainsi la grande communauté des voies de la sensibilité thermique et algique force à penser que si les endorphines modulent un système, elles doivent également intervenir sur le second.

3.3.5 ENDORPHINES ET RESPIRATION

Les effets respiratoires des morphiniques sont connus depuis longtemps et se manifestent à doses très faibles (bien inférieures aux doses analgésiques). L'effet typique est une dépression de l'activité respitatoire dans toutes ses phases mais surtout dans le rythme, qui peut tomber à 2 ou 4 mouvements/minute ou à l'apnée dans les cas de surdosage ; ces effets représentent les effets léthaux de la morphine dans les espèces qui sont principalement déprimées par cette drogue : homme, primates, chien, rat (dans les autres espèces : souris, cheval, chat, les effets létaux de la morphine sont représentés par des crises convulsives).

Les effets respiratoires des morphiniques sont des effets spécifiques puisqu'antagonisés par le Naloxone (DINGLEDINE et GOLDSTEIN, 1973 ; SHANNON et HOSTZMAN, 1976).

Le mécanisme d'action correspond à une diminution de la sensibilité de centre pneumotaxique à son excitant naturel le CO_2 ; la localisation des récepteurs morphiniques au locus coeruleus (le centre pneumotaxique) et la richesse en endorphines de cette structure (β endorphine et enképhalines) ont amené à rechercher l'activité respiratoire de ces dernières. On a ainsi montré que l'action de la β End en i.c.v. se manifeste à doses nanomolaires. En procédant sur des chiens non anesthésiés, habitués à un appareillage complexe , x et al.

(1978) ont montré que les enképhalines par voie générale ou i.c.v. produisant une diminution de la sensibilité au CO_2, effet annulé par le Naloxone.

La participation des endorphines à la respiration est plus que probable. Elles pourraient intervenir dans le cadre des réactions affectives motivationelles qui modifient le rythme respiratoire, le locus coeruleus étant par ailleurs décrit comme le centre de l'anxiété.

La participation des endorphines au contrôle de la respiration pourrait expliquer l'action antitoxique du Naloxone vis à vis des barbituriques et d'autres agents anesthésiques dont les effets de dépression respiratoire sont constants. Les possibilité d'utilisation du Naloxone comme agent antitoxique apparaissent réelles FURST et al. (1977).

3.3.6 ENDORPHINES ET STRESS

La libération concommitante de β Endorphine et de ACTH démontrée par GUILLEMIN et al. (1977) chez le rat, à conduit à se demander si la β End était responsable de certains phénomènes accompagnant le stress.

- La libération de corticoïdes par une action directe au niveau surrénalien semble exclue, cependant des intéractions hypothalamiques pourraient exister ; GIBSON et al. (1977, 1979) montrent ainsi que le Naloxone diminue la libération de corticostéroïdes dans le stress à l'éther chez la souris.

  Chez l'homme STUBBS et al. (1978) trouvent des résultats opposés, un analogue stable d'enképhaline produisait une baisse du taux de cortisol ainsi que d'ACTH.

- Les manipulations stressantes sont capables de provoquer une analgésie. Expérimentalement de nombreuses méthodes sont employées pour provoquer le stress (stimulation électrique inévitable, injection intrapéritonéale d'eau salée hypertonique, bain d'eau froide, privation de nourriture, glucoprivation ...). Le Naloxone est capable de s'opposer à l'analgésie provoquée dans certaines conditions. AMIR et AMIT (1978) trouvent un antagonisme total à leur stress d'immobilisation, AKIL et al. (1976, 1978) un antagonisme net à la stimulation plantaire, BODUAR et al. (1977) notent l'antagonisme du Naloxone à un stress à l'eau froide.

La participation de la β endorphine hypophysaire dans ces phénomènes n'est pas claire, la quantité libérée dans le sang périphéque au cours du stress semblant trop faible pour expliquer l'analgésie ; la β endorphine pourrait alors gagner l'hypothalamus par transport sanguin rétrograde ou le liquide céphalo rachidien (MEGEY et al., 1978) et y produire ses effets antalgiques (JACOB, 1979).

L'analgésie acupuncturale est diminuée par l'injection de Naloxone mais aussi par hypophysectomie (POMERANZ et al., 1977), ce qui sous tend une participation de β End à l'analgésie. A l'opposé GREVERT et al. (1978) montrent que l'hypophysectomie abolit l'effet hyperalgique du Naloxone ; chez les animaux hypophysectomisés le facteur hyperalgésiant ne serait pas présent.

Les observations (non démontrées) de nombreuses équipes, mais aussi celle de HEYBACH et VERNIKOS-DANELLIS (1978), invitent à penser que le facteur hyperalgésiant est l'ACTH.

Il y aurait donc libération, au cours du stress, d'un facteur d'éveil (l'ACTH) et d'un facteur limitant ses effets (β Endorphine).

3.4 ENDORPHINES ET ANALGÉSIE

La mise au point d'un analgésique dépourvu d'effets secondaires de type morphinique (tolérance, dépendance, ...) a bien sur été le moteur de toute la recherche sur les endorphines. Leur participation à un système d'analgésie interne a ensuite été reconnue et c'est surtout sous cet angle que nous envisageons ce chapitre ; il nous faudra auparavant faire un rappel sur la douleur et ses voies de conduction.

3.4.1 LA DOULEUR

a) Définition : La douleur est une expérience sensorielle désagréable distincte d'autres modalités sensorielles comme le tact, le chaud ou le froid. La douleur apporte une information sur l'état de l'organisme mais contrairement aux autres sensations, ne précise pas la nature du stimulus initiateur ; on peut cependant distinguer des qualités de douleur différentes et chacun sait que la douleur musculaire par ischémie est différente de la douleur cutanée ou de la contraction d'un viscère vieux.

La douleur est mise en jeu par des stimulations nociceptives chez les sujets normaux et représente un symptome fondamental dans de nombreuses maladies.

L'expérience douloureuse est déplaisante et se trouve liée à des circonstances émotionelles ou affectives (d'autres modalités sensorielles n'ont pas de retentissement affectif, par exemple la sensibilité musculaire).

La diversité des émotions associées à la douleur (vocalisation, fuite, volition, ...) laisse entrevoir de la diversité des structures cérébrales mises en jeu au cours de l'expérience douloureuse ; le thalamus, le système lombique, l'hypothalamus, la réticulée du tronc cérébral, le cortex pariétal et frontal, sont au nombre de ces structures ; on doit donc considérer qu'il n'y a pas de centre de la douleur ou bien que celui-ci est représenté par le cerveau en entier.

b) Théories de la douleur : Les messages douloureux empruntent des voies bien définies (voir plus loin) mais dont la spécialisation fonctionnelle n'est que relative :

. Emanant de récepteur périphérique, les fibres lisses, peu ou pas myélinisées, dites fibres Aδ et C, transmettent surtout les messages douloureux de nature thermique ou mécanique ; il existe cependant des fibres C non nociceptives.

. Les grosses fibres myélinisées participant au système lemniscal (voir plus loin) sont polymodales.

Certes il existe des récepteurs périphériques sensibles aux stimulations nociceptives (corpuscule de Ruffini, sensible au chaud ; corpuscule de Pacini, sensible à l'extension tendineuse). Il semblerait néanmoins que chaque récepteur possède un potentiel d'activation propre qui peut aller de l'effleurement de la peau au pincement intense et prolongé, dans le cas des récepteurs mécaniques.

C ② Le système Néo Spinothalamique

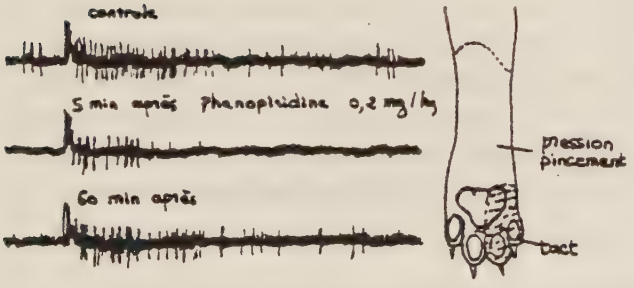
Il s'agit ici aussi d'un système rapide (pauci synaptique) se terminant dans le thalamus spécifique. Ce système n'est développé que chez les primates et serait responsable de la sensibilité algique localisée.

Les afférences principales sont de type C et les cellules d'origine des fibres dans les couches VI et VII des cornes dorsales ; de rares fibres prennent naissance dans les couches superficielles surtout au niveau du noyau spinal du trijumeau.

C ③ Le système paléospinothalamique

C'est le principal véhicule des influx algiques, il est responsable de la sensibilité protopathique, c'est à dire diffuse, mal localisé (le type de douleur sur laquelle la morphine agit le mieux). les cellules qui donnent naissance aux faisceaux spinothalamiques et spinocervicothalamiques sont localisées essentiellement dans les couches IV et V de REXED dans la corne dorsale de la moelle épinière. Ces cellules ont des champs d'afférence larges qui présentent un gradient de sensibilité; de plus ces cellules augmentent la décharge en fonction de l'intensité du stimulus.

L'étude de ces cellules est un très bon moyen d'approche à l'activité du système spinothalamique.

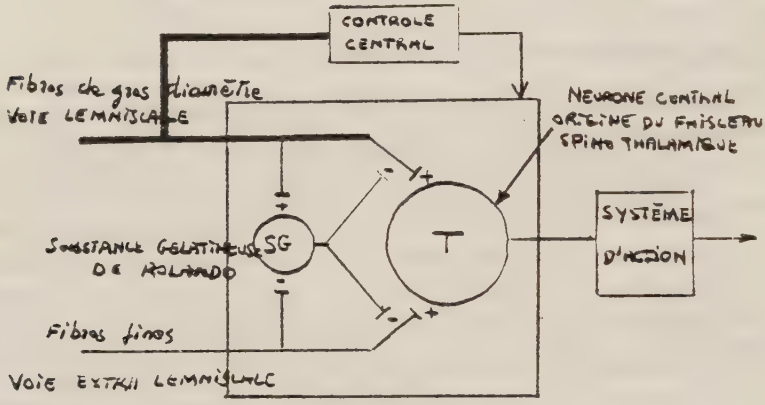


La réponse d'une cellule de type V à une stimulation électrique intense appliquée au niveau de son champ récepteur périphérique est fortement réduite après phénopiridine d'après BESSON J.M. (1977) Act. Pharmac. XXIX

- Les fibres afférentes périphériques sont de type A_δ et C mais il existe de nombreuses convergences en provenance des viscères (ainsi la stimulation du nerf splanchinique est capable d'activer ces cellules).

Ces faits, associés à des faits expérimentaux montrent que les influx entrant dans les voies de conduction de la douleur sont modulés en permanence, ont conduit MELZACK et WALL (1965) à formuler une nouvelle théorie de la douleur. D'après ces auteurs la douleur n'est pas une modalité sensorielle spécifique, c'est à dire qu'elle ne résulte pas de la sommation d'évènements unitaires et uniformes.

Leur théorie, dite "gate control theory" ou théorie de la porte, schématise le système de la douleur de la façon suivante.



Cette théorie met en exergue le rôle de contrôle présynaptique de la substantia gelatinosa de Rolando (couches I et II et de REXED) et l'opposition electrophysiologique entre fibres fines (S) et fibres de gros diamètre (L). Cette théorie très largement admise, reçoit des confirmations spectaculaires par exemple dans le cas des névralgies post herpétiques (zonat) ; au cours de ces maladies les fibres myelinisées sont détruites, la porte est donc soustraite à tout contrôle et le moindre attouchement provoque une douleur vive.

c) Les voies ascendantes de la douleur

L'essentiel de la sensibilité algique est véhiculée dans les quadrants antéro latéraux de la moelle épinière ; on doit néanmoins distinguer deux systèmes afférents en raison de leur signification fonctionnelle différente et des relations antagonistes qu'ils peuvent entretenir.

On parle ainsi de sensibilité protopathique pour désigner le type de sensibilité douloureuse, diffuse, floue qui est véhiculée par le système paléo spinothalamique.

Le système lemniscal, à l'opposé, véhicule les messages à grande vitesse, en rapportant exactement leur lieu d'afférence (organisation somatotopique).

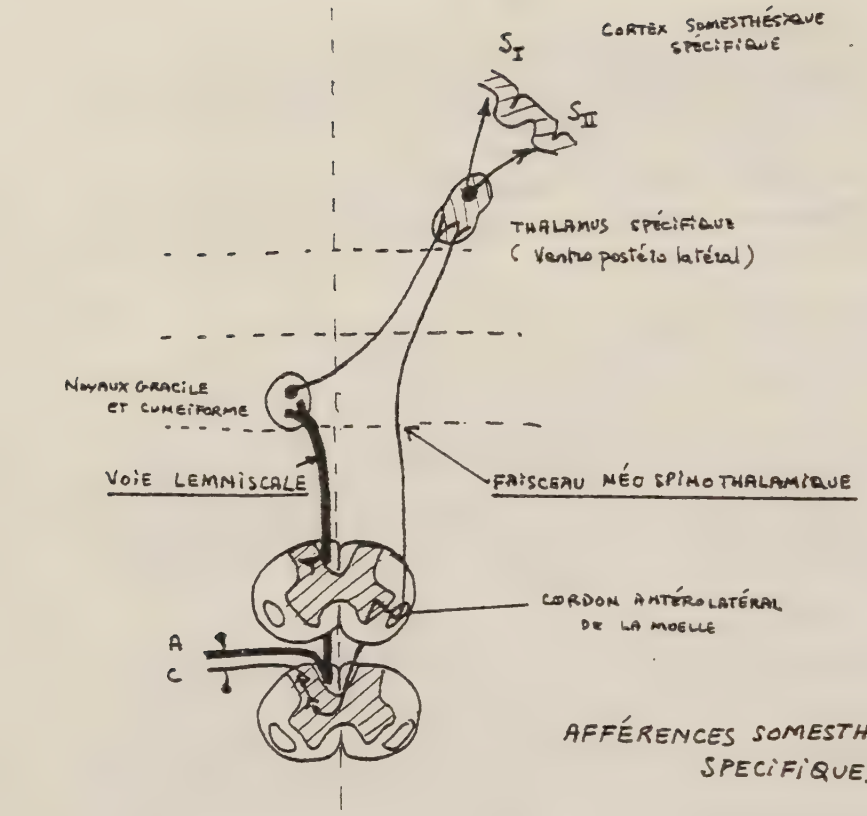
C ① Le système lemniscal

L'organisation somatotopique de ces systèmes en fait celui des transports de la sensibilité tactile fine, de la sensibilité discriminative (entre deux piqures par exemple), de la sensibilité vibratoire (pallesthésie), de la sensibilité temporelle (stimulations itératives ou simultanées) et spatiale, de la sensibilité à la pression (baresthésie).

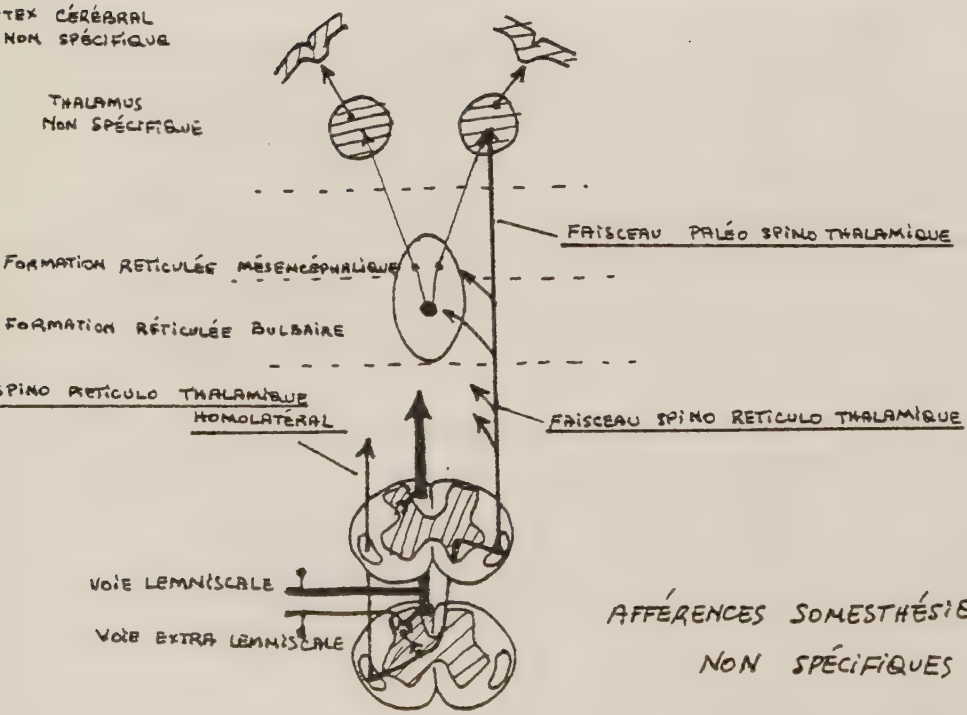
Il n'est d'habitude pas associé à la conduction algique ; DART et GORDON (1973) ont en effet montré que la section des colonnes dorsales ne modifie pas le seuil de retrait à une stimulation nociceptive ; certains neurones des colonnes dorsales sont cependant activés de façon maximale par stimulations périphériques nociceptives mais il pourrait s'agir là d'interneurones.

Organisation anatomique : les afférences à ce système sont des fibres myelinisées qui gagnent le tractus spinal par les cornes postérieures et y forment les colonnes dorsales ou faisceau de GOLL et BURDACH homolatéraux ; elles gagnent ensuite la région bulbaire pour former synapse dans les noyaux graciles et cunéiformes (noyau de GOLL et BURDACH) avec des neurones projetant aux noyaux thalamiques ventro postéro latéraux (thalamus spécifique). Certaines fibres des colonnes dorsales proviennent de corps cellulaires situés dans les couches IV et V de Roxed qui reçoivent des afférences de type C (ANGAUT PETIT, 1975).

De ce système lemniscal on doit rapprocher du point de vue fonctionnel le système Néo Spinothalamique.



AFFÉRENCES SOMESTHÉSIQUES SPÉCIFIQUES



AFFÉRENCES SOMESTHÉSIQUES NON SPÉCIFIQUES

- A l'étage médullaire ces fibres font synapse
  - . soit sur des cellules de la couche I, elles gagnent alors directement le thalamus,
  - . soit sur les interneurones courts de la substance gélatineuse de Rolando (couches II et III de Rexed et noyau spinal du trijumeau)
  - . soit sur les gros neurones des couches plus profondes IV, V, VI (la topographie de ces neurones est en fait variable selon l'espèce et l'étage médullaire).

presque toutes les fibres traversent alors la ligne médiane pour former les cordons antéro latéraux de la moelle = faisceau spino thalamique ; certaines ne sont pas croisées et gagnent les cordons antéro ipsilatéreux : c'est le système spinothalamique homolatéral.

- Les fibres des quadrants antéro latéraux de la moelle gagnent alors des structures centrales variées et l'on est amené à considérer
  - . un <u>système spinothalamique</u> : dont les fibres gagnent directement le thalamus ventrobasal (non spécifique) d'où elles projettent au cortex non spécifique et aux structures limbiques
  - . un <u>système spino reticulothalamique</u> : ce système est difficile à individualiser du précédent au niveau anatomique ; les cellules d'origine sont situées dans les couches IV, V, VI au niveau cervical chez le chat (et présentant les caractéristiques des cellules appartenant à ces couches) ; au niveau thoracique les corps cellulaires sont localisés dans les couches VII et VIII et reçoivent des afférentes cutanées, profondes ou complexes.

La caractéristique de cette voie est représentée par les synapses dans la formation réticulée du tronc cérébral, d'où des projections thalamiques et hypothalamiques.

D'après MELZACK et CASEY (1968), ce système est associé aux aspects aversifs et motivationels de la sensation douloureuse. La stimulation de la formation réticulée médiane du tronc (FRMT) donne lieu à un comportement de fuite chez le chat (CASEY 1971).

C 4 D'autres réseaux neuronaux sont capables de transmettre des messages nociceptifs.

Le système spinocervical qu'emprunte les faisceaux antérolatéraux est nécessaire à l'obtention d'une analgésie totale chez le chat (FIELDS et BASBAUM, 1978). Une carte topographique de la surface corporelle du chat projetant à des cellules du système spinocervical a pu être tracée par BRYAN et al. (1973). L'intervention de ce système dans la transmission douloureuse est incertaine chez l'homme (NIJENSOHN, 1975).

Il existe également un système propiospinal. Il s'agit d'un réseau neuronal dense, équivalant à la formation réticulée du tronc cérébral. Les cellules d'origine sont situées plus profondément que la couche VI, mais des cellules du système spinothalamique peuvent établir des connexions propriospinales. On connaît peu de choses du fonctionnement de ce système lors de l'activation des autres systèmes ; son intervention est prouvée par le fait que chez des animaux sur lesquels toutes les voies ascendantes classiques ont été sectionnées, une stimulation nociceptive induit un comportement rappelant la douleur (BASBAUM, 1973). Ce système pourrait être responsable de la douleur sourde, non localisée qui persiste après myelectomie.

D Les voies inhibitrices descendantes

C'est SHERINGTON qui initialement découvrit que les réflexes cutanés étaient inhibés chez les animaux décérébrés ; cela a conduit de nombreux chercheurs à tenter de découvrir les structures du tronc cérébral responsables de cette inhibition.

On connaît à l'heure actuelle trois systèmes inhibiteurs descendant du bulbe.

d_1 Le premier procède dorsalement du nucléus réticularis giganto cellulaire (RGC) et descend ventralement dans la moelle épinière. Il semble qu'il ne puisse jouer sur les influx algogènes que faiblement, ses projections aboutissent à des structures impliquées dans la motricité.

d_2 Les deux autres empruntent les faisceaux dorso latéraux de la moelle (FDL) et prennent naissance :

- soit dans les noyaux du raphé, tout particulièrement le nucléus raphé magnus (NRM) ; c'est le système raphé spinal.
- soit dans les régions ventromédiales du tronc proches du raphé ; système dorsoréticulospinal.

Les études autoradiographiques de BASBAUM et al. (1976, 1977) ont montré que les axones des cellules de ce système se terminent sur des neurones des couches I, IV et V de la moelle épinière (l'appartenance de certains de ces neurones à des systèmes de transmission nociceptive a été démontrée par HANDWERKER et al. (1975), il y aurait un contrôle inhibiteur tonique spécifique des afférents de type C aux cornes dorsales.

Le système raphé spinal est sérotoninergique (DALHSTROM et FUXE, 1965).

Du point de vue électrophysiologique, les études de M^{c} CREERY et BLOEDEL (1975) montrent que des neurones spinothalamiques du chat voient leur décharge diminuée par stimulation de la réticulaire ou d'afférents cutanés de noyau du trijumeau.

De la même manière, des neurones spinoréticulaires peuvent être inhibés par stimulation réticulaire (FIELDS et al., 1975) ou d'afférences vestibulaires.

Ces résultats indiquent que certaines régions du tronc cérébral dont la substance grise périaqueducale (GPA), le nucléus raphé magnus (NRM), les noyaux dorsaux du raphé (NDR), font partie d'un système inhibant les influx algogènes au niveau spinal.

3.4.2 L'ANALGESIE PAR STIMULATION ELECTRIQUE

La stimulation électrique de certaines zones du cerveau est capable d'engendrer une analgésie profonde sans diminution notoire de l'activité, voisine donc de l'analgésie morphinique. De nombreux sites de stimulation ont été explorés, certains sont utilisés en thérapeutique humaine (stimulation externe ou interne) : noyau caudé, septum, capsule interne et thalamus ventrobasal, colonnes dorsales. Chez les

animaux d'expérience la substance grise periaqueducale (GPA) et periventriculaire (au niveau thalamique), l'hypothalamus latéral (COX, 1965) et le NRM ont été les plus étudiés.

Cependant, comme le soulignent MAYER et LIEBESKIND (1974) les paramètres de stimulation et les tests d'analgésie employés peuvent être à l'origine de résultats discordants.

3.4.3 L'ANALGESIE MORPHINIQUE

a) Anatomie

a.1 Distribution des récepteurs et des endorphines

Les descriptions que nous en avons données plus haut, permettent de se rendre compte que récepteurs et endorphines sont localisés

a.2 Sites d'action centraux

. Les injections intracérébrales et intraventriculaires tendent à prouver que la GPA dans sa partie postérieure (HERZ et al., 1970) est le site d'injection le plus approprié à l'obtention d'une analgésie morphinique.

Dans l'ensemble, la superposition des zones actives par microinjection ou par stimulation correspond bien aux zones riches en enképhalines et en récepteurs ; il y a cependant des exceptions d'importance :

- LEWIS et GEBHART (1977) ont montré que les sites de la GPA les plus actifs en stimulation électrique ou en microinjection morphinique ne sont pas tout à fait les mêmes.
- La microinjection de morphine dans le striatum de rat, ne produit pas d'analgésie bien que cette région soit riche en récepteurs (YAKSH et al., 1976).
- La stimulation du NRM provoque une analgésie chez le chat (OLIVERAS et al., 1977) et le rat (PROUDFIT et ANDERSEN, 1975).

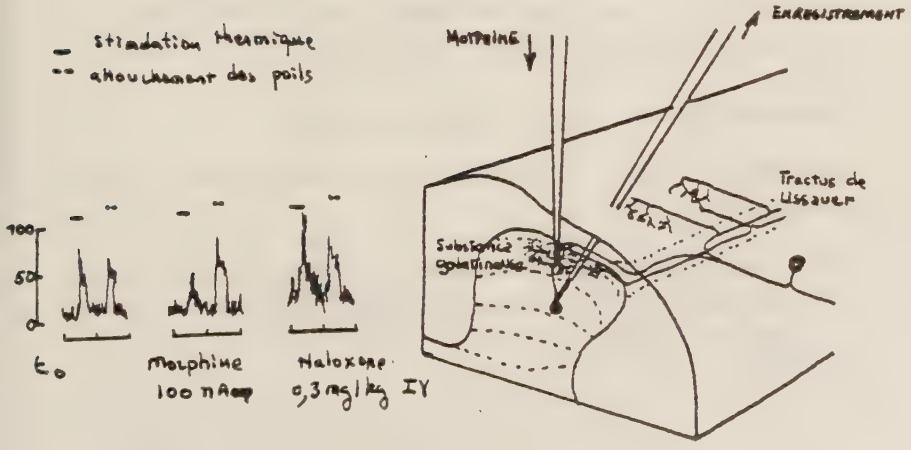
Par contre, la microinjection de morphine, ne provoque pas l'analgésie.

- Les lésions spécifiques de la GPA et du NRM s'opposent à l'analgésie morphinique.

- L'application directe de morphine ou d'enképhalines à une cellule (microionophorèse) conduit, le plus souvent, à une dépression de l'activité (spontanée ou évoquée) de la cellule. Ce phénomène observée dans de nombreux tissus avec l'exception dans les cellules de Reushaw et des neurones hippocampaux où les résultats sont à l'opposé (DAVIS et DRAY, 1976), a été reconnu dans les sites d'analgésie morphinique précités.
  Ainsi la plupart des cellules de la GPA sont déprimées par l'application d'opioïdes par iontophorèse (GENT et al., BRADLEY et al., 1976).

a.3 Effets directs sur la moelle épinière

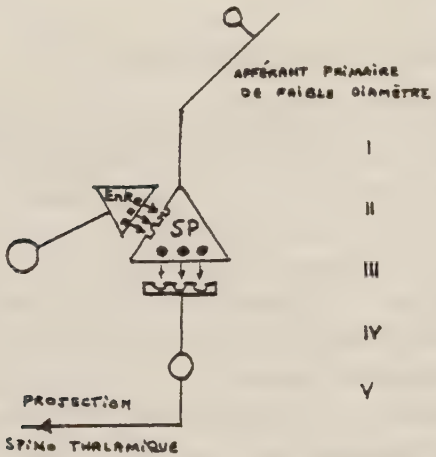
Nous avons vu que récepteurs et enképhalines étaient contenus en quantités importantes dans les couches superficielles de la moelle. En procédant sur des animaux spinaux (spinalisation réversible par le froid), LE BARS et al. (1975, 1976) montrent que l'injection systémique de morphine, produit des effets inhibiteurs sur les neurones de la couche V de la corne dorsale, principalement après stimulation nociceptive de leur champ périphérique. DUGGAN et al. (1977) montrent que l'injection iontophorétique de morphine dans la substantia gélatinosa produit une dépression de l'activité neuronale évoquée par divers stimuli, surtout cet effet est annulé par l'injection systémique de Naloxone 0,1 mg/kg



Chez l'animal intact, YAKSH et RUDY (1976) ont montré que l'injection sous arachonoïdienne, au niveau lombaire, de 10 µg de morphine produit une analgésie du train postérieur.

Il semble donc que dans les conditions physiologiques les morphinniques et les enképhalines puissent avoir un effet spinal direct.

JESSEL et IVERSEN (1977) pensent que les enképhalines inhibent de façon présynaptique (axo-axonique) les afférents primaires au niveau de la substance gélatineuse, en bloquant la libération de substance P.



Le schéma qu'ils proposent peut rendre compte des faits expérimentaux que nous venons de citer, il représente selon les auteurs la porte de la "gate theory" de MELZACK et NALL (1967). Il n'indique cependant pas dans quels lieux et conditions le système d'analgésie endogène est activé.

b) Mécanismes neuronaux de l'analgésie morphinique

L'action supraspinale des morphiniques est étayée par les arguments suivants :

. l'analgésie produite par injection systémique de morphine est bloquée par la microinjection de Naloxone dans le GPA (JACQUET et LAJTHA, 1976).

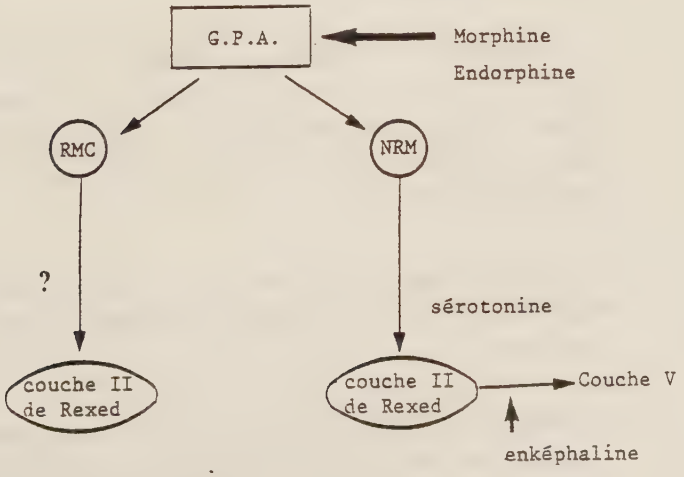
. la section des faisceaux dorsolatéraux (FDL) qui interrompt les connexions raphé-moelle épinière, bloque l'analgésie produite par la morphine en i.v., par stimulation de la GPA ou microinjection de morphine.

Il y a donc nécessité d'une voie descendante raphé spinale pour l'obtention de l'analgésie morphinique qui serait initiée dans la GPA (MAYER et PRICE, 1976).

On sait cependant qu'il y a un relais sérotoninergique dans l'analgésie morphinique (VOGT, 1974), celui-ci est représenté par le NRM, en effet :

. les relations anatomiques du PAG au NRM sont nombreuses,
. l'injection de morphine (par voie générale ou directement dans la GPA) provoque des neurones du NRM (ANDERSON & FIELDS, 1977),
. la destruction du NRM bloque l'analgésie morphinique, la stimulation excite des neurones spinaux répondant à la douleur.

L'observation que le Naloxone ne bloque que de façon partielle l'analgésie par stimulation de la GPA (il bloque mieux l'analgésie par stimulation du NRM) a conduit BASBAUM et FIELDS (1977) à conclure qu'il existe un autre système émant du NRM. Il s'agit en fait du nucléus réticularis magnocelluraris (RMC) qui projette de nombreuses fibres aux couches I, II et V de la corne dorsale. Ce système est insensible au Naloxone et n'est donc pas enképhalinergique, de même qu'il n'est pas monoaminergique.



Il reste de nombreux éléments à éclaircir quant aux mécanismes neuronaux de l'analgésie morphinique. Ce schéma permet néanmoins de prévoir que les neurones du raphé activés de façon antidromique par des stimuli nociceptifs sont capables de mettre en oeuvre le système d'analgésie interne de l'organisme et de produire l'analgésie dans le même territoire ou dans d'autres territoires.

Ces mécanismes ont été proposés pour expliquer l'action des techniques contre irritatives employées depuis des siècles : acupuncture, moxibustion.

C) CONCLUSIONS

Il en résulte que le Naloxone, en bloquant les endorphines, devrait s'opposer à l'action analgésique de telles manipulations.

Le Naloxone bloque effectivement l'analgésie acupuncturale de façon partielle (MAYER et PRICE, 1976 ; MELZACH, 1973) des résultats récents indiquent que seules les basses fréquences de stimulation en électro acupuncture sont sensibles à l'action antagoniste du Naloxone (CHENG et POMERANZ, 1979).

L'état de fonctionnement du système d'analgésie interne en dehors des stimulations nociceptives a été l'objet de nombreuses controverses, il a été examiné sous l'angle de l'action du Naloxone sur des animaux au repos.

De nombreuses publications ont rapporté des résultats négatifs ; ainsi le Naloxone ne diminue pas le seuil de retrait à une stimulation plantaire (GOLDSTEIN et al., 1976), ne diminue pas le seuil de la douleur chez l'homme en bonne santé (EL SOBKY, 1976 ; MAYER et al., 1977).

D'autres, au contraire (JACOB et al., 1974) montrent que le Naloxone peut diminuer le temps de latence au test de la plaque chauffante.

La controverse est en fait limitée car il est reconnu qu'il n'y a pas de test adéquat pour caractériser la douleur. Ainsi la stimulation de la GPA ou l'injection de morphine sont capables

de produire une analgésie complète chez l'homme atteint de douleur chronique, mais elles ne sont pas associées à une élévation du seuil de la douleur (HOSOBUCHI et al., 1977). On peut donc conclure que les tests standard utilisés pour mesurer les seuils douloureux ne sont pas sensibles à l'action du système d'analgésie interne.

ANNEXE I

MESURE DE LA FIXATION DES MORPHINIQUES SUR LEUR RÉCEPTEUR

① Préparation du matériel biologique

La méthode utilisée est très proche de celle décrite par PERT et SNYDER (1973) ; les rats sont décapités, les cerveaux sans leur cervelet (1,7 ± 0,2 g) sont immédiatement prélevés et homogénéisés dans 10 volumes de tampon tris Hcl froid (50 nM, pH 7,4 à 25°C) avec un potter de Thomas verre téflon (vitesse : 35 tours/seconde).

L'homogénat est ensuite dilué avec le même tampon froid (volume total : 110 ml/g de cerveau) de façon à obtenir une concentration en protéines voisine de 1 mg/ml. Le taux exact de protéines est déterminé par la méthode de Lowry et col. (1951).

Toutes ces opérations sont réalisées soit dans la glace, soit en chambre froide.

② Incubation

Les incubations ont été réalisées dans des tubes en plastique dans lesquels on ajoute successivement :

- 0,8 ml d'homogénat
- 0,1 ml de morphinique à la concentration étudiée
- 0,1 ml d'étorphine tritiée à la concentration finale de 1 nM.

Les tubes sont placés pendant 20 minutes à 35°C dans un incubateur thermomix Braun type 1440 muni d'un système d'agitation horizontal (100 mouvements/mn). La réaction est arrêtée par filtration en fibre de verre (filtres GFB Whatman de 2,4 cm de diamètre et 1 mm d'épaisseur) au moyen de deux rampes 1225 lillipore.

Les filtres sont lavés sous vide avec 5 ml puis 10 ml de tampon

très froid. Ils sont ensuite récupérés et séchés pendant 20 minutes sous une lampe IR puis placés dans des fioles de comptage contenant 10 ml de liquide scintillant. La composition du scintillant est la suivante :

- 7 g de butyl PBD + 0,3 l de Triton M-101 + 0,7 l de Toluène -

le comptage est réalisé dans un scintillateur Beckman type LF 3150 P.

ANNEXE II

CARACTÉRISATION DE RÉCEPTEUR

La mise en évidence d'une liaison spécifique est évidemment insuffisante pour affirmer que l'on est en présence d'un récepteur pharmacologiquement actif. Selon CUATRECASAS un récepteur doit répondre à cinq conditions :

① On doit observer une liaison saturable, ce qui implique un nombre limité de sites récepteurs.

② La liaison doit être spécifique d'un type moléculaire, stéréospécifique s'il y a lieu.

③ Les récepteurs doivent être trouvés dans les organes cibles en rapport avec ce que l'on sait de l'activité pharmacologique.

④ La liaison doit être réversible.

⑤ La liaison doit dégager un nombre de type de récepteurs limité (voir 1.2.3)

Nous examinerons donc successivement ces cinq points :

① SATURABILITE DE LA LIAISON - NOMBRE DE SITES RECEPTEURS

La saturation est le caractère initialement recherché lorsqu'on teste la liaison d'un morphinique à un organe quelconque ; elle est bien entendu très largement démontrée mais il existe des substances pour lesquelles elle est impossible à mettre en évidence, ainsi la Lopéramide en raison de sa très grande lipophilicité masque complètement sa liaison saturable.

Le nombre de sites récepteurs est estimé en menant des tests de liaison en présence de concentration croissante de ligand, la liaison maximale Bmax est exprimée en f. moles par gramme de protéines.

Une étude ontogènique extensive menée par l'équipe de GROS à Toulouse (AUGUY-VALETTE et al., 1978) montre que les récepteurs sont présents dès la naissance et que leur nombre (Bmax) suit une cinétique déter-

minée, parallèle à celle du développement pondéral des protéines du cerveau.

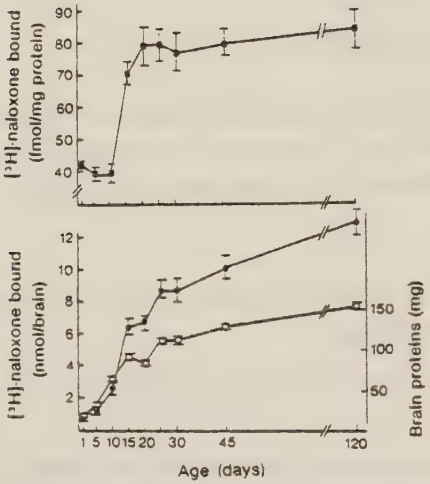


Figure 4 Stereospecific binding of [³H]-naloxone and proteins in brain during development. [³H]-naloxone binding is expressed as femtomol/mg of protein (■) in (a) and nanomol/brain (●) in (b). Brain proteins are expressed as mg/brain (○). Each point represent mean of determinations from 5 to 15 animals; vertical lines show s.e. means.

Le nombre de sites récepteurs à partir du 20ème jour de développement du rat est donc constant dans le cerveau. Il était intéressant de savoir si ce nombre variait au cours des états de tolérance ou de dépendance si caractéristiques de l'utilisation des morphiniques.

Les résultats les plus disparates existent à ce sujet, ainsi :

. PERT et SNYDER (1976) notent une augmentation immédiate et importante de nombre de sites de liaison après injection de morphine mais ne peuvent la relier au développement de la tolérance ou de la dépendance.

. Des expériences de liaison in vitro, sur homogénats ou coupes de cerveau (DAVIS 1975, 1977) et in vivo (SHEN et WAY, 1975) montrent une affinité diminuée du récepteur à la morphine et au Naloxone.

En fait les seuls résultats concordants sont ceux de HOLLT(1975),

KLEE (1975), BONNET (1976) qui, in vitro, ne peuvent mettre en évidence de changement dans le nombre, ni l'affinité des récepteurs sur des animaux tolérants. En procédant in vivo HUANG et TAKOMORI (1975), PERT (1976) et MULE (1976) obtiennent des résultats identiques.

Ces résultats excluent l'explication simple et directe des phénomènes de tolérance ou de dépendance à la morphine ; (ces effets ne sont probablement pas spécifiques (LLORENS et al., 1978)). Par contre, la stabilité du niveau des récepteurs cérébraux est encore en exergue.

② SPECIFICITE DE LA LIAISON RECEPTEUR-MORPHINE

L'observation d'une liaison de haute affinité, saturable, ne permet pas elle seule d'affirmer que les effets d'une drogue sont médiés par un récepteur pharmacologiquement actif ; il faut s'assurer que la drogue et ses dérivés se lient exclusivement à ce récepteur et que celui-ci présente une affinité moindre pour d'autres classes de drogues. Le travail mené sur les morphinique est, à cet égard, absolument univoque ; l'observation du comportement différent des drogues d'un même couple énantiomère introduit la notion de stéréospécifité : le récepteur morphinique ne convient qu'aux drogues de forme (L) :

Les couples suivants :

Levorphanol - Dextrorphan	(PERT et SNYDER, 1973, SIMON 1973)
Levallorphan - Dextrallorphan	(GOLDSTEIN et al. 1978)
Dextromoramide - Levomoramide	(TERENIUS, 1973)
R 2266 - R 2277	(LORD et al., 1976)

montrent tous le même rapport entre l'affinité pour le récepteur et le pouvoir pharmacologique de chaque énantiomère.

Les couples de la famille du méthanol montrent une corrélation beaucoup moins stricte PERT et SNYDER (1973) ont montré que cela tenait à la plus grande labilité conformationelle des molécules de cette série chimique.

D'une façon générale, toutes les drogues à activité morphinique présentent une affinité supérieure pour le récepteur morphinique que pour d'autres récepteurs ; la spécificité est assez bien établie pour permettre d'utiliser le binding comme preuve primaire de l'activité morphinique d'une substance endogène ou exogène (J. CROS, 1979).

Quelques cas d'exception, concernant des drogues sont néanmoins intéressants à signaler :

. La phénoxybenzamine (un agent α bloquant) est capable d'inhiber de façon compétitive la liaison de divers morphiniques (CICERO et al., 1974). Elle possède, de plus un pouvoir antinociceptif réversible par le Naloxone (ELLIOTT et al., 1976).

. Certains neuroleptiques (pimozide et benpéridol, par exemple) ont une bonne affinité de liaison (CREESE et al., 1976 ; LEYSEN et al., 1976, 1977).

. Certains anesthésiques cationiques, à structure proche de celle des morphiniques, possèdent également une affinité pour le récepteur morphinique (CRAVISO et MUSACCHIO, 1976). Cependant l'affinité observée est inférieure à l'affinité observée pour d'autres récepteurs et un rôle dans les conditions physiologiques paraît peu probable.

D'autre part, on a pu montrer une liaison spécifique de la morphine à des filtres en fibre de verre ou en cellulose. LOH et al. (1975) ont montré que la liaison pouvait être observée à des phosphatides dont ils font un modèle de récepteur.

③ LOCALISATION DES RECEPTEURS - CORRELATION DE L'ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE

Localisation des récepteurs au niveau du SNC

Nous avons vu que les récepteurs ont d'abord été mis en évidence sur des fractions centrifugales de cerveau ; peu de temps après SIMON et al. ont montré en utilisant des techniques de liaison que la distribution n'était pas homogène dans l'encéphale.

Un des résultats les plus immédiats est que le cervelet est pratiquement dépourvu de récepteurs, HOLLT et HERZ (1976) utilisent ce résultat pour interpréter leurs résultats de binding in vivo.

PERT, KUHAR et SNYDER en 1976, ont procédé à la localisation des récepteurs par autoradiographie, ce sont leurs résultats chiffrés que nous citons ici.

Area	Autoradiographic grain density
cortex (A 6860)	
areas	12 ± 2
ireas	5 ± 1
cortex (A 3990)	9 ± 2
ipus (A 3990)	9 ± 4
yrus (A 3990)	9 ± 3
ptum (A 7190)	8 ± 1
ea (A 6860)	
" under corpus callosum	65 ± 6
s"	53 ± 5
djacent to patches	9 ± 2
callosum	2 ± 1
capsule bundles	3 ± 1
r commissure	5 ± 2
llidus	20 ± 4
area (A 3990)	
ireas	29 ± 4
areas	20 ± 5
la	
l aspect of medial nucleus	11 ± 4
al aspect of medial nucleus	63 ± 5
l aspect of lateral nucleus	11 ± 2
al aspect of lateral nucleus	15 ± 6
tricular substance	29 ± 5
amic area (A 3990)	
rsal to ventricle III	14 ± 3
ntral to ventricle III	15 ± 4
eral to ventricle III	15 ± 3
le III	6 ± 2
c area (A 6860)	14 ± 4
(A 3990)	
eral nucleus	64 ± 7
nucleus	45 ± 8
Midbrain-pons	
Interpenduncular nucleus (A 1610)	
Dorsal	54 ± 5
Ventral	15 ± 3
Nucleus linearis caudalis (A 1610)	12 ± 4
Periaqueductal gray (P 290)	24 ± 5
Periaqueductal gray (−7.2*)	30 ± 5
Dorsal raphe nucleus (P 290)	13 ± 2
Median raphe nucleus (P 290)	15 ± 4
Superior cerebellar peduncle (P 290)	6 ± 2
Nucleus tegmenti pontis (P 290)	3 ± 1
Inferior colliculus (−7.2*)	24 ± 3
Reticular formation (−7.2*)	
Midline (narrow vertical areas)	42 ± 6
Ventral area	14 ± 3
Lateral areas	8 ± 2
Pontine nuclei (−7.2*)	5 ± 2
Decussation of cerebellar peduncle	4 ± 1
Substantia nigra	
Zona reticulata	14 ± 2
Zona compacta (central)	30 ± 5
Zona compacta (remainder)	15 ± 3
Cerebellum	
Vermis, lobes I-IV (−7.2*)	3 ± 1
Deep nuclei (−9.6*)	3 ± 1
Other cortical areas (−7.2, −9.6*)	3 ± 1
Medulla (−8.2*)	
Locus coeruleus	43 ± 5
Ventricle IV	4 ± 2
Nerve VII	7 ± 2
Nucleus nerve V	10 ± 2
Spinocerebellar tract	4 ± 1
Medial longitudinal bundle	4 ± 1
Reticular gray	15 ± 3
Periventricular gray	28 ± 4
Spinal cord	
Substantia gelatinosa	51 ± 6
Remainder of dorsal horn	9 ± 3
Ventral horn	7 ± 1
White matter	3 ± 1

La répartition large et systématisée des récepteurs fait l'objet d'un commentaire au chapitre 2.3.1 à propos de la distribution des enképhalines qui lui est superposable.

Localisation à d'autres organes

La recherche des récepteurs au niveau périphérique a souvent conduit à des résultats décevants. On peut imputer le manque de résultats à des difficultés techniques qui tiennent à :

. l'homogénéisation insuffisante des organes
. le manque de normes quant aux procédures de liaison
. l'atteinte des limites de sensibilité de la technique de liaison.

On peut citer quelques organes sur lesquels les récepteurs ont été identifiés de façon directe : membrane nictante de chat, iléon de cobaye, atrium de lapin et de chat ; citons également des structures nerveuses périphériques : ganglion cervical supérieur, ganglion coaliaque de lapin.

Cette liste n'est absolument pas restrictive, elle souligne cependant
. des variations interspécifiques très fortes
. des répartitions très localisées sur un organe (par ex : iléon v.s. reste de l'intestin grêle et colon chez le cobaye).

L'exemple le plus frappant des difficultés techniques est le canal déférent de souris ; ce matériel n'a jamais fait l'objet d'une mise en évidence directe des récepteurs, alors qu'on a d'excellentes preuves in vitro de leur existence et même de leur particulière affinité pour les enképhalines.

Localisation cellulaire

On a longtemps soutenu que les récepteurs étaient portés exclusivement par des éléments neuronaux.

PERT et SNYDER (1974) ont démontré que les récepteurs de l'iléon de cobaye se trouvaient, de fait, dans les cellules du plexus myentétique. Les mêmes auteurs ont de plus montré, en fractionnant le culot mitochondrial de centrifugation et en vérifiant au microscope électronique que la liaison de H^3 dihydromorphine au cerveau de rat, se fait essentiellement au niveau synaptique.

Des résultats récents, indiquent néanmoins que cette distribution aux cellules nerveuses ne serait peut être pas exclusive ; en effet, certains tissus pauvres en fibres nerveuses (rein de cobaye) ou dépourvus de fibres nerveuses (placenta) ont fait l'objet d'études qui montrent la présence de récepteur à leur niveau (VALETTE et al., 1979). Il s'agit cependant comme précédemment de récepteurs membranaires.

. l'homogénéisation insuffisante des organes
. le manque de normes quant aux procédures de liaison
. l'atteinte des limites de sensibilité de la technique de liaison.

On peut citer quelques organes sur lesquels les récepteurs ont été identifiés de façon directe : membrane nictante de chat, iléon de cobaye, atrium de lapin et de chat ; citons également des structures nerveuses périphériques : ganglion cervical supérieur, ganglion coaliaque de lapin.

Cette liste n'est absolument pas restrictive, elle souligne cependant
. des variations interspécifiques très fortes
. des répartitions très localisées sur un organe (par ex : iléon v.s. reste de l'intestin grêle et colon chez le cobaye).

L'exemple le plus frappant des difficultés techniques est le canal déférent de souris ; ce matériel n'a jamais fait l'objet d'une mise en évidence directe des récepteurs, alors qu'on a d'excellentes preuves in vitro de leur existence et même de leur particulière affinité pour les enképhalines.

Localisation cellulaire

On a longtemps soutenu que les récepteurs étaient portés exclusivement par des éléments neuronaux.

PERT et SNYDER (1974) ont démontré que les récepteurs de l'iléon de cobaye se trouvaient, de fait, dans les cellules du plexus myentétique. Les mêmes auteurs ont de plus montré, en fractionnant le culot mitochondrial de centrifugation et en vérifiant au microscope électronique que la liaison de H^3 dihydromorphine au cerveau de rat, se fait essentiellement au niveau synaptique.

Des résultats récents, indiquent néanmoins que cette distribution aux cellules nerveuses ne serait peut être pas exclusive ; en effet, certains tissus pauvres en fibres nerveuses (rein de cobaye) ou dépourvus de fibres nerveuses (placenta) ont fait l'objet d'études qui montrent la présence de récepteur à leur niveau (VALETTE et al., 1979). Il s'agit cependant comme précédemment de récepteurs membranaires.

AFFINITE POUR LE RECEPTEUR ET POUVOIR PHARMACOLOGIQUE DES SUBSTANCES MORPHINIQUES

La mise en évidence d'une très bonne corrélation entre l'affinité pour le récepteur et le pouvoir pharmacologique de diverses substances morphiniques, constitue une des meilleures preuves de l'existence des récepteurs pharmacologiquement actifs.

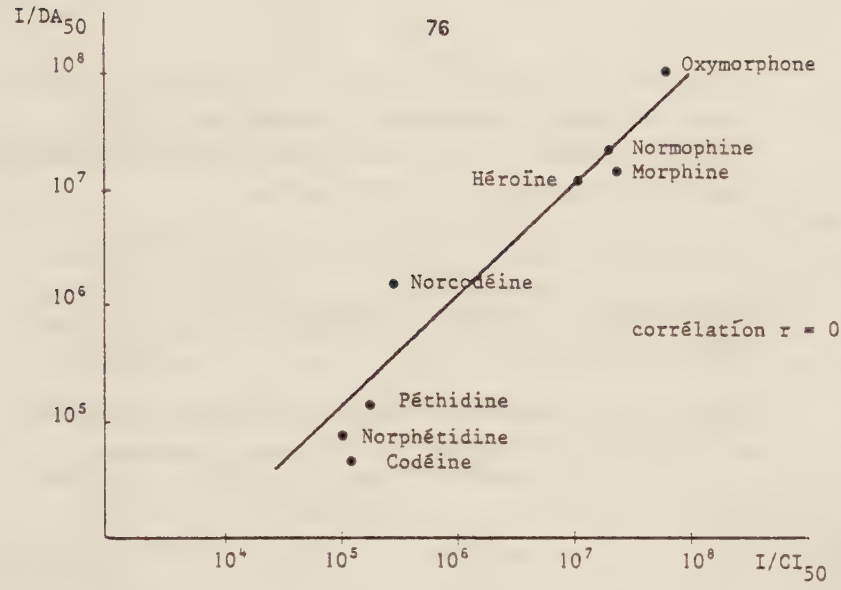
Cette corrélation doit être examinée pour les agonistes et les antagonistes, elle exige la mise en oeuvre d'une méthodologie parfaite.

- Le pouvoir AGONISTE peut être estimé de diverses manières, les tests d'analgésie les plus employés sont décrits dans l'ouvrage de M. RUCKEBUSH, "physiologie, pharmacologie, thérapeutique vétérinaire." La mise en oeuvre de techniques in vitro est également possible, on recherche par l'adjonction de morphinique :
  - . l'inhibition des contractions induites par stimulation électrique de l'iléon de cobaye ou de plexus myentérique.
  - . l'inhibition des contractions du canal déférent de souris induites par stimulation électrique.
  - . l'inhibition de réflexe péristaltique chez le rat auquel on a administré du charbon par le bouche.

  L'affinité relative des drogues est mesurée par le calcul de la CI_{50} de la liaison d'un ligaud radioactif à un homogénat de cerveau de rat.

  Les facteurs de variation sont représentés par le test pharmacologique utilisé. Ainsi les tests in vivo introduisent quelques résultats contradictoires qui tiennent à des vitesses de perméation différentes des produits testés ou à leur métabolisme intermédiaire.

  Nous présentons ici les résultats d'une étude menée par TOUMI en 1977 qui mesure l'affinité relative par la CI_{50} vis à vis de la morphine et le pouvoir analgésique par le test de la plaque chauffante après injection intracérébrale.



Cependant les conditions du milieu d'incubation et notamment la présence de Na^+, influent considérablement sur la liaison. PERT et SNYDER ont ainsi testé la liaison de nombreuses molécules en présence et en l'absence de Na^+, ils dégagent la conclusion suivante : l'ion Na^+ diminue fortement (jusqu'à 50 fois) la liaison des agonistes purs, moyennement (2 à 3 fois) la liaison des agonistes-antagonistes, il n'influe pas sur celle des antagonistes purs.

Cet "effet sodium" a des conséquences importantes au niveau théorique (cf. 2.4) et pratique (il permet d'utiliser le "sodium ratio" comme moyen de prédiction de l'activité agoniste ou antagoniste d'un morphinique).

Les cations divalents

PASTERNAK et al. (1975) constatent avec Ca^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+} une augmentation de la liaison des agonistes ; effet d'autant plus net que Mg^{2+} est capable de renverser l' "effet sodium". Les mécanismes en cause sont peut-être très proches du mode d'action du récepteur.

- Le pouvoir ANTAGONISTE est de détermination assez délicate in vivo, on peut le tester de deux manières :

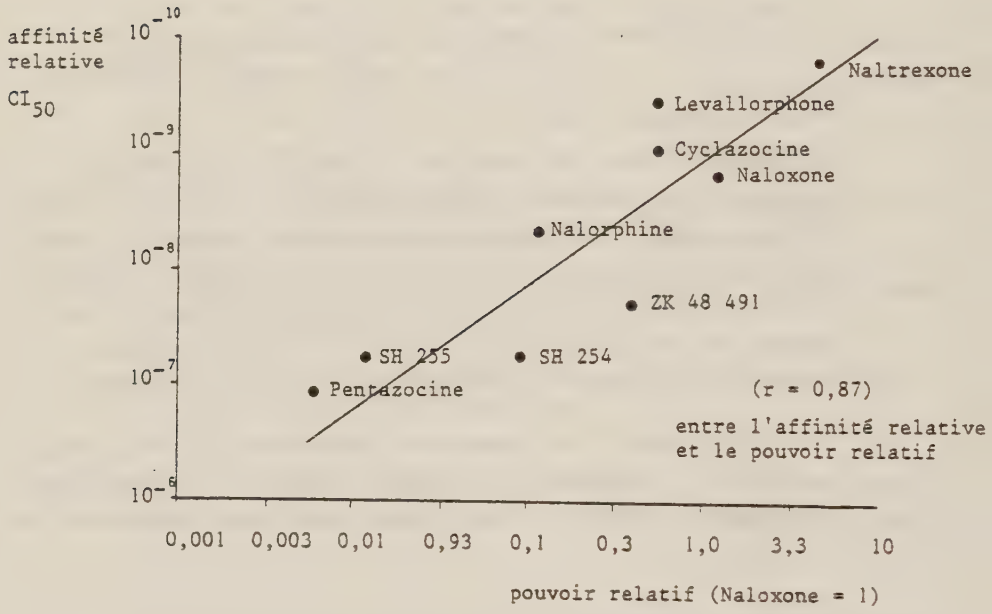
  . contre le pouvoir analgésiant d'un morphinique estimé par un des tests classiques ; le rapport des quantités antagoniste/agoniste à injecter est difficile à établir.

. précipitation de syndrome d'abstinence chez des rats rendus tolérants -dépendants à la morphine (implantation de pellet ou injections répétées) ; on recherche alors des signes comportementaux caractéristiques ou une hypothermie.

in vitro, on fait appel aux tests précédemment décrits.

L'affinité pour le récepteur est évaluée par le calcul des CI_{50} vis à vis du H^3 Naloxone.

Malgré la difficulté de caractérisation des effets antagonistes BLASIG et al. (1976) trouvent une très bonne corrélation



CI_{50} = concentration de produit qui inhibe la liaison de H^3 Naloxone à des cerveaux de rat, de 50 %.

Le pouvoir relatif mesuré est celui de provoquer des sauts au cours du syndrome abstinence provoqué par l'injection de ces substances à des rats tolérants-dépendants.

④ REVERSIBILITE DE LA LIAISON

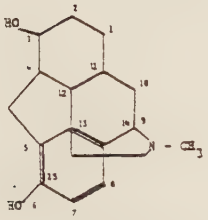
Cette caractéristique de la liaison n'est pas recherchée systématiquement, elle est pourtant absolument fondamentale pour affirmer que les diverses morphiniques et enképhalines entrent en compétition pour les mêmes récepteurs. La réversibilité de la liaison est largement prouvée, cependant dans certaines conditions expérimentales on peut se trouver devant des types d'inhibition non compétitive.

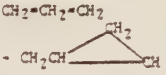
CHANG et al. (1978) ont montré la réversibilité de la liaison de I^{125} ($DAla^2$, $DLeu^5$) Enképhaline à des cultures de cellules de neuroblastome (N_4 TG_1) qu'ils utilisent comme modèle de liaison ; pour cela, ils évaluent la constante d'association k, et mesurent ensuite la dissociation pendant 2 heures, ils tirent la constante de dissociation k_{-1} ; la valeur de la constante d'équilibre K_D ($K_D = \frac{k_1}{k_{-1}}$) est très proche de celle qu'ils obtiennent directement sur la courbe de saturation. La cinétique de dissociation n'est pas modifiée par un large excès de ($DAla^2$, $DLeu^5$) Enképhaline froide, prouvant ainsi l'absence de coopérativité négative. Ils montrent par ailleurs que leur modèle ne comporte qu'une seule classe de sites de liaison, sans coopérativité.

La réversibilité paraît donc pleinement utile à rechercher pour caractériser les matériels biologiques utilisés pour les tests de liaison et sa démonstration peut permettre l'utilisation de modèles plus simples ou homogènes que ceux employés couramment.

ANNEXE III : CLASSIFICATION DES MORPHINIQUES

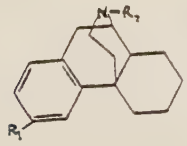
OPIACES



AGONISTES	Modifications 3 *	6 *	17 *	Autres Modifications
rphine	- OH	- OH	CH_3	-
roine	- $OCOCH_3$	- $OCOCH_3$	CH_3	-
romorphone	- OH	= O	CH_3	-
opon	- OH	= O	CH_3	CH_3 en 5*
rmorphone	- OH	= O	CH_3	OH en 14*
rorphanol	- OH	- H	CH_3	pas d'O entre 4* et 5*
réine	- OCH_3	- OH	CH_3	-
rocodone	- OCH_3	= O	CH_3	-
ANTAGONISTES				
orphine	- OH	- OH	$CH_2CH_2{=}CH_2$	-
oxone	- OH	= O	$CH_2{=}CH_2{=}CH_2$	-
trexone	- OH	= O		-

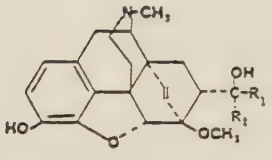
romorphone	DILAUDID *
morphone	NUMORPHAN *
opon	METOPON *
orphanol	LEVO DROMORAN *
rocodone	HYCODON *
orphine	NALLINE *
oxone	NARCAN *

MORPHINANES



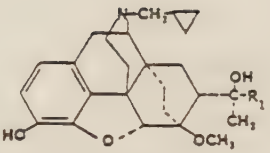
R_1	R_2	Nom
OH	CH_3	Racemorphan
OCH_3	CH_3	Dextrométhorphan
OH	$CH_2CH{=}CH_2$	Levallorphan
OH		Cyclorphan

ORIPAVINES



R_1	R_2	Base
C_3H_7	CH_3	Etorphine

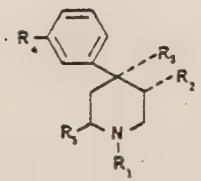
IMMOBILON (N.D.)



R_1	Base
CH_3	Diprenorphine

REVIVON (N.D.)

PHENYL-4-PIPERIDINES

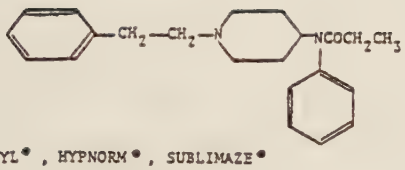


R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	Name
CH_3	H	$CO_2C_2H_5$	H	H	Meperidine
CH_3	CH_3	$OCOC_2H_5$	H	H	Alphaprodine
$(CH_2)_2$-C$_6$H$_4$-NH2	H	$CO_2C_2H_5$	H	H	Anileridine
$(CH_2)_2CH(C_6H_5)$-OH	H	$CO_2C_2H_5$	H	H	Phenoperidine
CH_3	H	COC_2H_5	OH	H	Ketobemidone
$(CH_2)_3NHC_6H_5$	H	$CO_2C_2H_5$	H	H	Piminodine
CH_3	CH_3	$OCOC_2H_5$	H	CH_3	Trimeperidine
CH_3	H	$CO_2CH(CH_3)_2$	H	H	Properidine
H	H	$CO_2C_2H_5$	H	H	Norpethidine
H	H	$CO_2C_2H_5$	OH	H	Norbemidone

4-Aryl piperidines.

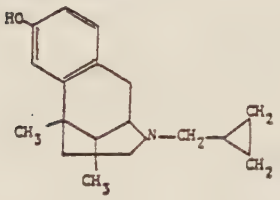
Mépéridine-péthidine — DOLOSAL® — DEMEROL® — DOLANTIN®
Alpha prodine — NISENTIL®
Anilériline — LERITINE®
Diphénoxylate — LOMOTIL® antidiarrhérique

FENTANYL

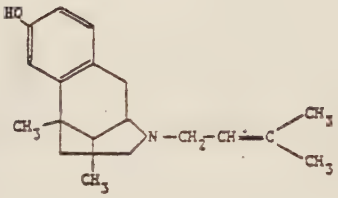


FENTANYL® , HYPNORM® , SUBLIMAZE®

BENZOMORPHANES



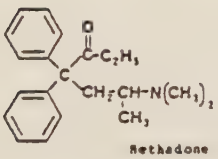
Cyclazocine



Pentazocine

FORTRAL® , TALWIN®

PHENYLPROPYLAMINES



Methadone

DOLOPHINE (N;D;) METHADON(N:D.) BUTALGIN(N.D.)

dextromoramide : PALFIUM(N.D.)

Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire

Pœofesseur RUCKEBUSCH

Professeur R. LAUTIE

Le Président de la Thèse

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 19 MAI 1980
P/ LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
PAUL SABATIER, et par délégation
LE VICE-PRESIDENT,

:ofesseur CROS

UNIVERSITE PAUL-SABATIER - TOULOUSE

Professeur L. LARENG

B I B L I O G R A P H I E

1 - ADLER H. F., ATKINSON E.A., IVY A.C. (1942)
Arch. Int. Med. 69, 974

2 - AKIL H., MAYER D. J., LIEBESKIND J. C. (1976)
Science 191, 961

3 - AKIL H., WATSON S.J., BERGER P.A., BARCHAS J.D. (1978)
in "The Endorphius" (E. Costa & Trabucchi ed.)
Raven Press, New York, p. 125 - 140

4 - AMBINDER R. F., SCHUSTER M. M. (1979)
Gastroenterology, 77, 1132

5 - AMIR S., AMIT Z. (1978)
Life Sci., 23, 1143

6 - ANDERSON S.D., FIELDS H. L. (1977)
Neurosci. Abstr., 3,

7 - AUGUY VALETTE A., CROS J., GOUARDERES Ch., GOUT R., PONTONNIER G. (1978)
Br. J. Pharmac., 63, 307

8 - AUSTEN B. M., SMYTH D. G., SNELL C. R. (1977)
Nature, 269, 619

9 - BASBAUM A. I. (1973)
Exp. Neurol., 40, 699

10 - BASBAUM A. I., CLANTON C. H., FIELDS H. L. (1976)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73, 4685

11 - BASBAUM A. I., CLANTON C. H., FIELDS H. L. (1977)
J. Comp. Neurol. voir FIELDS et BASBAUM (1978)

12 - BISSET G. W., CHOWDREY H. S. et FELDBERG (1978)
Br. J. Pharmacol. 62, 370

13 - BLÄSIG , HÖLLT V., HERZ A., PASCLELKE (1976)
Psychopharmacologia (Berlin), 46, 41

14 - BLOOM F. E., BATTENBERG E., ROSSIER J., LING N., LAPPALUOTO J., VARGO T. N., GUILLEMIN R. (1977)
Life Sci., 20, 43

15 - BLOOM F. E., BATTENBERG E., ROSSIER J., LING N., GUILLEMIN R. (1978)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 75, 1591

16 - BLUME A. J., SHON J., FINBERG J.P.M., SPECTOR S. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 4927

17 - BODNAR R.J., KELLY D.D., SPIAGGIA A., GLUSMAN M. (1977)
Fed. Proc., 37, 40

18 - BONNET, HILLER J.M., SIMON E.J. (1976)
in "Opiates and Endogenous Opioïd Peptides"
(H. W. Kosterlitz ed.) Elsevier, Amsterdam p. 335 - 343

19 - BRADBURY A. P., SMYTH D. G., SNELL C. R. (1976a)
Ciba Found. Symp., 41, 61

20 - BRADBURY A. F., SMYTH D. G., SNELL C.R., BIRDSALL N.J.M., HULME E.C. (1976b)
Nature, 260, 793

21 - BRADLEY P. B., BRIGGS I., GAYTON R. J., LAMBERT L. A. (1976)
Nature, 261, 425

22 - BRUNI J. F., VAN VOGT D., MARSHALL S., MEITES J. (1977)
Life Sci., 21, 461

23 - BRYAN R. N., TREVINO D. L., COULTA J. O., WILLIS W. D. (1973)
Exp. Brain Res., 17, 177

24 - BUENO L., RUCKEBUSH Y. (1978)
C. R. Sciences Soc. Biol., 172, N° 5, 972

25 - BURKS T. F. (1973)
J. Pharmacol. Exp. Ther., 185, 530

26 - BURKS T. F. (1976)
in Annual Review of Pharmacology and Toxicology, Vol. 16, 15 - 31

27 - BURMEISTER P., KERP L. (1978)
Nature, 272, 729

28 - CASEY K. L. (1971)
Int. J. Neurosci., 2, 15

29 - CHANG K. J., MILLER R. J., CUATRECASES P. (1978)

30 - CHENG R., POMERANZ (1979)
Life Sci., 25, 1957

31 - CICERO T. J., MEYER E. R., SMITHLOFF (1974)
J. Pharmacol. Exp. Ther., 189, 72

32 - CICERO T. J., MEYER E. R., BELL R. D., KOCH G. A. (1976)
Endocrinology, 98, 367

33 - COCCHI D., SANTAGOSTINO A., GIL-AD I., FENIS, MÜLLER E. E. (1977)
Life Sci., 20, 2041

34 - COULTER J. D., MERGNER T., POMPEIANO O. (1974)
Brain Res., 82, 322

35 - COWAN A., DOXEY J. C., METCALF G. (1976)
in "Opiates and Endogenous Opioïds Peptides" (H. W. Kosterlitz ed.) Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, p. 95 - 102

36 - COX V. C., VALENSTEIN E. S. (1965)
Science, 149, 323

37 - COX B. M., OPHEIM K. E., TESCHEMACHER H., GOLDSTEIN A. (1975)
Life Sci., 16, 1777

38 - COX B. M., GENTLEMAN S., SU T. P., GOLDSTEIN A. (1976a)
Brain Res., 115, 275

39 - COX B. M., GOLDSTEIN A., LI C. H. (1976 b)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73, 1821

40 - CRAVISO J., MUSACCHIO (1975)
Life Sci., 16, 1803

41 - CREESE I., FEINBERG , SNYDER S. H. (1976)
Eur. J. Pharmacol., 36, 231

42 - CUELLO A. C., PAXINOS G. (1978)
Nature, 271, 180

43 - CUSAN L., DUPONT A., KIEDZIK G. S., LABRIE F., COY D. H., SCHALLY A. V. (1977)
Nature, 268, 564

44 - DAHLSTRÖM A., FUXE K. (1965)
Acta Physiol. Scand., 64, (suppl. 246), 1 - 30

45 - DAJANI E. Z., WOODSEN, ROGE E. A., BERTERMANN R. E., SCHWEIGRUBER F. L. (1979)
Arch. Int. Pharmacodyn. Therap., 240, 340

46 - DART A., GORDON G. (1973)
Brain Res., 58, 61

47 - DAVIES J., DRAY A. (1976)
Nature, 262, 603

48 - DAVIS T., AKERA C. Y., BRODY T. M. (1975)
Res. Commun. Chem. Pahtol. Pharmacol., 12, 409

49 - DAVIS T., AKERA C. Y., BRODY T. M. (1977)
Fed. Proc., 36, 813

50 - DE BODO R. D. (1944)
J. Pharmacol. Exp. Therap., 82, 74

51 - DE CARO G., MICOSSI L. G., VENTURI F. (1979)
Nature, 277, 51

52 - DINGLEDINE R., GOLDSTEIN A. (1973)
Brit. J. Pharmacol., 48, 718

53 - DUGGAN A. W., HALL J. G., HEADLEY P. (1977)
Brit. J. Pharmacol., 61, 65

54 - DUKA T., HOLLT V., PRZEWLOCKI R., WESCHE D. (1978)
Biochem. Biophys. Res. Commun., 85, 1119

55 - DUPONT A., CUSAN L., GARON M., LABRIE F., LI C. H. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 358

56 - EIPPER B.A., MAINS R. E. (1976)
Biochemistry, 14, 3836

57 - EIPPER B. A., MAINS R. E., GUENZI D. (1976)
J. Biol. Chem., 251, 4121

58 - ELDE R., HÖKFELT T., JOHANSSON O., TERENIUS L. (1976)
Neuroscience, 1, 349

59 - ELDE R., HÖKFELT T., JOHANSSON O., LJUNGDAHL A., NILSSON G., JEFFCOATE S. L. (1978)
in "centrally acting peptides" (J. Hugues ed.) Mc Millen, N. Y. McMillen, New York

60 - ELLIOT H.W., SPIEHLER, NAVARRO (1976)
Life Sci., 19, 1637

61 - EL SOBKY A., DOSTROVSKY J. O., WALL P. D. (1976)
Nature, 263, 783

62 - FELDBERG W., SHALIGRAUN S. W. (1972)
Br. J. Pharmacol., 46, 602

63 - FERLAUD L., FUXE K., FEROCH P., GUSTAFSSEN J.B., SKELT P. (1977)
Eur. J. Pharmacol., 63, 89

64 - FIELDS H. L., WAGNER G. M., ANDERSON S. D. (1975)
Exp. Neurol., 47, 118

65 - FIELDS H. L., BASBAUM A. I. (1978)
Ann. Rev. Physiol., 40, 217

66 - FRATTA W., YANG H. Y., HONG T., COSTA E. (1977)
Nature, 268, 452

67 - FÜRST Z., FOLDES F. F., KNOLL T. (1977)
Life Sci., 17, 921

68 - GIBBS D. M., NEILL J. D. (1978)
Endocrinology, 102, 1895

69 - GIBSON A., GINSBURG M., HALL M., HART S. L. (1977)
J. Physiol. (London), 270, 28p

70 - (1979)
Brit. J. Pharmacol., 65, 139

71 - GINTZLER A. R., LEVY A., SPECTOR S. (1976)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73, 2132

72 - GINTZLER A. R., GERSHEN M. D., SPECTOR S. (1978)
Science, 199, 447

73 - GOLDSTEIN A., LOWNEY L., PAL (1971)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 68, 1742

74 - GOLDSTEIN A., PRYOR G. T., OTIS L. S., LARSEN F. (1976)
Life Sci., 18, 599

75 - GOLDSTEIN A., COX B. M., KLEE W. A., NIRENBERG M. (1977)
Nature (London), 265, 362

76 - GOLDSTEIN A., TACHIBANA S., LOWNEY L., HUNKAPILLER M., HOOD L. (1979)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 6666

77 - GRANDISON L., GUIDOTTI A. (1977 a)
Nature, 270, 357

78 - GREVERT P., BAIZMAN E. R., GOLDSTEIN A. (1978)
Life Sci., 23, 723

79 - GRUBE D., VOIGT K. H., WEBER E. (1978)
Histochem., 59, 75

80 - GUDELSKY G. A., PORTER J.C. (1979)
Life Sci., 25, 1697

81 - GUILLEMIN R. (1978)
Science, 202, 390

82 - GUILLEMIN R., LING N., BURGUS R. (1976)
C. R. Hebd. Séances Acad. Sci., 282, 783

83 - GUNNE L. M. (1960)
Arch. Int. Pharmacodyn., 129, 416

84 - HAMBROOK J. M., MORGAN B. A., RANCE M. J., SMITH C.F.L. (1976)
Nature, 262, 782

85 - HANDWERKER H. O., IGGO A., ZIMMERMAN M. (1975)
Pain, 1, 47

86 - HERZ A., ALBUS K., METYS J., SCHUBERT P., TESCHEMACHER H. (1970)
Neuropharmacology, 9, 539

87 - HEYBACH J. P., VERNIKOS DANELLI J. (1978)
J. Physiol. (London), 283, 331

88 - HILL R. G., PEPPER C. M., MITCHELL J. F. (1976)
Nature, 262, 604

89 - HÖKFELT T., LJUNGDAHL A., TERENIUS L., ELDE R., NILSSON G. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 3081

90 - HOLADAY J. W., WEI E., LOH H. H., LI C. H. (1978)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 75, 2923

91 - HÖLLT V., HERZ A. (1976)
in "Opiates and Endogenous Opioïd Peptides" (H.W. KOSTERLITZ ed.)
Elsevier, Amsterdam, p. 345 - 352

92 - HÖLLT V., WUSTER M. (1978)
in "Developments in opiate research" (A. Herz ed.)
Marcel Dekker, New York

93 - HOLTZMAN S. G. (1974)
J. Pharmacol. Exp. Ther., 189, 51

94 - HOLTZMAN S. G. (1979)
Life Sci., 24, 219

95 - HONG J. S., YANG H. Y., FRATTA W., COSTA G. (1977)
Soc. Neurosci. Symp., 293, Abstr.

96 - HOSOBUCHI Y., ADAMS J. E., LINCHITZ R. (1977)
Science, 197, 183

97 - HUANG , TAKEMORI (1975)
Biochem. Pharmacol., 25, 47

98 - HUGUES J. (1975)
Brain Res., 88, 295

99 - HUGUES J. (1978)
La Recherche, 9, N° 93, 866

100 - HUGUES J., SMITH T. W., MORGAN B. A., FOTHERGILL L. A. (1975 a)
Life Sci., 16, 1753

101 - HUGUES J., SMITH T. W., KOSTERLITZ H. W., FOTHERGILL L. A., MORGAN B. A., MORRIS H. (1975 b)
Nature, 255, 577

102 - HUIDOBRO TORO J., HUIDOBRO F., GROXATTO R. (1979)
Life Sci., 24, 697

103 - HUTCHINSON , KOSTERLITZ H. W., LESLIE , WATERFIELD A., TERENIUS L. (1975)

104 - IPP E., DOBBS R., UNGAR R. H. (1978)
Nature, 276, 190

105 - JACOB J.J., TREMBLAY E., COLOMBER M. C. (1974)
Psychopharmacologia, 37, 217

106 - JACOB J. J. et al (1979)
J. Physiol. (Paris), 75, 447

107 - JACQUET Y. F., LAJTHA A. (1974)
Brain Res., 103, 501

108 - JAFFE J. H., MARTIN W. R. (1974)
in "The pharmacological basis of therapeutics"
(Goodman & Gilman ed.) Mc Millan, New York

109 - JESSEL T., IVERSEN L. L. (1977)
Nature, 268, 549

110 - JHAMANDAS K., SUTAK M. (1974)
Brit. J. Pharmacol., 50, 57

111 - KANGAWA K., MATSUO H., IGARASHI M. (1979)
Biochem. & Biophys. Res. Commun., 86, 153

112 - KLEE W. A., SHARMA S. K.,NIRENBERG M. (1975)
Life Sci., 16, 1869

113 - KOBAYASHI R., PALKOVITS M., MILLER R. J., CHANG K. J., CUATRECASAS P. (1978)
voir MILLER R. J., CUATRECASAS P. (1978)

114 - KONTUREK S. J., PAWLIK W., TASLER J. (1978 a)
in "Gut Hormones" (S. R. Bloom ed.)
Churchill Livingston, New York, p. 507 - 514

115 - KOSTUREK S. J., TASLER J., CRESZKOWSKI M., JAWOREK J., COY D. H., SCHALLY A. V. (1978 b)
Gastroenterology, 74, 851

116 - KREUGER (1933)
Physiol. Rev., 17, 619

117 - KRIEGER D. T., LIOTTA D., BROWNSTEIN M. J. (1977 a)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 648

118 - KRIEGER D. T., LIOTTA D., SUDA T., PALKOVITS M., BROWNSTEIN M. J. (1977b)
Biochem. Biophys. Res. Commun., 76, 930

119 - KROMER W., PIETZLAFF W. (1979)
Naunys Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 309, 153

120 - KUMAR M. S. A., CHEN C. L., MUTHER T. F. (1979)
Life Sci., 25, 1687

121 - LA BELLA F., QUEEN G., SENYSHYN J., LIS M., CHRETIEN M. (1977)
Biochem. Biophys. Res. Commun., 75, 350

122 - LAL H., MIKSIC S., SMITH N. (1976)
Life Sci., 18, 971

123 - LE BARS D., MENETREY D., CONSEILLER D., BESSON J.M. (1974)
C. R. Hebdom. Acad. Sci., 279, 1369

124 - LE BARS D., MENETREY D., CONSEILLER D., BESSON J.M. (1975)
Brain Res., 98, 261

125 - LE BARS D., CRILBAUD G., JURNA L., BESSON J.M. (1976)
Brain Res., 115, 518

126 - LEWIS V. A., GEBHART G. F. (1977)
Brain Res., 124, 283

127 - LEYSEN , COMMEREN , LADURON (1976)
Arch. Int. Pharmacodyn., 220, 335

128 - LEYSEN , TOLLENAERE , KOCH , LADURON (1977)
Europ. J. Pharmacol., 43, 253

129 - LI C. H. (1964)
Nature (London), 201, 924

130 - LI C. H. (1977)
Arch. Biochem. Biophys., 183, 592

131 - LIEN E. L., FENICHEL R. L., GARSKY V., SARANTAKIS D., GRANT D. H. (1976)
Life Sci., 19, 837

132 - LLORENS C., MARTRES M. P., BAUDRY M., SCHWARTZ J. C. (1978)
Nature, 274, 603

133 - LOH H., CHO , WU , HAMMIS , WAYEL (1975)
Life Sci., 16, 1811

134 - LOH H., BRASE D. A., SUMPATH KHANA S., MAR J. B., WAY E. L., LI C. H. (1976)
Nature (London), 264, 567

135 - LOMAX P., GEORGE R. (1966)
Brain Res., 2, 361

136 - LORD , WATERFIELD , HUGUES J., KOSTERLITZ A. W. (1976)
in "opiates and endogenous opioïd peptides"
(H. W. Kosterlitz ed.) Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam

137 - MAGEE D. F. (1975)
Gastroenterology, 68, 1340

138 - MAINS R. E., EIPPER B. A., LING N. (1977)
Proc. Natal. Acad. Sci. U.S.A., 74, 3014

139 - MALFROY B., SWERTZ J.P., GUYON A., ROQUES B. P., SCHWARTS J.C. (1978)
Nature, 276, 523

140 - MARGULES D. L., MOISSET B., LEWIS M. J., SHIBUYA H., PERT C. B. (1978)
Science, 202, 988

141 - MARTIN J. B., AUDET J., SAUNDERS A. (1979)
Endocrinology 96, 839

142 - MARTIN W. R. (1967)
Pharmacol. Rev. 19, 463

143 - MARTIN W. R., EADES , THOMPSON , HUPPLER , GILBERT (1976)
J. Pharmacol. Exp. Therap. 197, 517

144 - MAYER D. J., LIEBESKINK J. C. (1974)
Brain Res. 68, 73

145 - MAYER D. J., PRICE D. D. (1976)
Pain 2, 379

146 - MAYER D. J., PRICE D. D., RAFFI A. (1977)
Brain Res. 121, 360

147 - McCREERY D. B., BLOEDEL J. R. (1975)
Brain Res. 97, 151

148 - McLEOD R. M. (1976)
in "Frontiers in Neuroendocrinology" (Martini & Ganong ed.)
Raven Press, New York, p 169 - 194

149 - MEEK J., YANG H. Y., COSTA E. (1977)
Neuropharlacology 16, 151

150 - MELZACK R., WALL P. O. (1965)
Science 150, 971

151 - MELZACK R., CASEY K. (1968)
in "The Skin Senses" (Kenstals ed.) Springfield - p 423

152 - MEZEY E., PALKOVITS M., DE KLOET E. R., VER HOEF J., DE VIED D. (1978)
Life Sci., 22, 831

153 - MILLER R. J., CHANG K. J., CUATRECASAS P., WILKINSON S. (1977)
Biochem. Biophys. Res. Commun 74, 1311

154 - MILLER R. J., CUATRECASAS P. (1978)
Vitamins and hormons 36

155 - MITZNEGG P., DOMSCHKE W., SPRUGEL W., DOMSCHKE S., SUBRAMANIAN M., WUNSCH E., MORODER L., DEMLING L. (1977)
Acta Hepato-Gastroenterol., 24, 119

156 - MORONI F., CHENEY D. L., COSTA E. (1977)
Nature, 267, 267

157 - MOSS R. L., McCANN S. M. (1973)
Science, 181, 177

158 - MULE S.J., CASELLET, CLOUET D.H. (1976)
Psychopharmacologie (Berlin), 44, 125

159 - NAKANISHI S., TAN S., HIRATA V., MATSUKARA S., IMURA H., NUMA S. (1976)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73, 4319

160 - NAKANISHI S., INOUE A., KITA T., NAKAMURA M., CHANG A. C. Y., COHEN S., NUMA S. (1979)
Nature, 278, 423

161 - NAKAI Y., NAKAO K., OKI S., IMURA H. (1978)
Life Sci., 23, 2013

162 - NIJENSOHN D. E., KERR F. W. L. (1975)
J. Comp. Neurol., 161, 459

163 - ODAGIRI R., SHERREL B., MOUND C., NICHOLSON W., ORTH D. (1979)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 2027

164 - OLIVERAS J. L., REDJEMI F., GUILBAUD G., BESSON J. M. (1975)
Pain, 1, 139

165 - OLIVERAS J. L., HOSOBUCHI Y., REDJEMI F., GUILBAUD G., BESSON J. M. (1977)
Brain Res., 120, 221

166 - PAINTER J. L., TRUELOVE C. L. (1964)
Gut, 5, 207

167 - PASTERNAK G., SNOWMAN , SNYDER S. H. (1975 a)
Molec. Pharmacol. 11, 735

168 - PASTERNAK G., GOODMAN G., SNYDER S. H. (1975 b)
Life Sci., 16, 1765

169 - PASTERNAK G., SIMANTOV R., SNYDER S. H. (1976)
Molec. Pharmacol., 12, 504

170 - PEARSE A. G. E. (1968)
Proc. R. Soc., B 170, 7

171 - PEARSE A. G. E. (1976)
Nature (London), 262, 92

172 - PELLEGRINI QUARANTOTTI B., CORDA M. G., PAGLIETTI E., BIGGIO G., GESSA G. L. (1978)
Life Sci., 23, 673

173 - PERT A., SIVIT C. (1977)
Nature, 265, 645

174 - PERT C. B., SNYDER S. H. (1973)
Science 179, 1011

175 - PERT C. B., SNYDER S. H. (1976)
Biochem. Pharm., 25, 847

176 - PERT C. B., SNYDER S. H., KUHAR A. (1976)
in "Tissue Response to Addictive Drugs" (Ford & Clouet ed.) Spectrum Publications Incorporation, New York, p 89

177 - PERT C. B., KUHAR A., SNYDER S. H. (1976)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73, 3729

178 - POLAK J. M., BLOOM S. R., SULLIVAN S. N. (1977)
The Lancet, 8019, 972

179 - POLLARD H., LLOREUS CORTES C., SCHWARTZ J. C. (1977)
Nature, 268, 743

180 - POMERANZ B., CHENG R., LAW P. (1977)
Exp. Neurol., 54, 172

181 - PROUDFIT H. K., ANDERSON E. G. (1965)
Brain Res., 98, 612

182 - REES L. H. (1975)
J. Endocrinol., 67, 143

183 - RINALDO J. A., ORINION E. A., SIMPLELO R. V. (1971)
Gastroenterology, 60, 438

184 - RIVIER C., VALE W., LING N., BROWN M., GUILLEMIN R. (1977)
Endocrinology, 100, 238

185 - ROBERTS J. C., HERBERT E. (1977)
Proc. Natl. Adad. Sci. U.S.A., 74, 4862

186 - ROSS E. L. (1918)
J. Biol. Chem., 34, 335

187 - ROSSIER J., BAYER A., VARGOT T., LING N., BLOOM F. E., GUILLEMIN R. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 5162

188 - ROSSIER J., BATTENBERG E., PITTMAN O., BAYON A., KODA L., MITTER R., GUILLEMIN R., BLOOM F. E. (1979)
Nature, 277, 653

189 - ROTSZTEJN W. H., DROUVQ S., PATTON E., KORDON C. (1978)
Nature, 274, 281

190 - SARNE Y., AZOU R., WEISMAN B. A. (1978)
Brain Res., 151, 399

191 - SASTRY B.V.R., BARNWELL S. L., TAYEB O. S., JANSEN V. E., OWENS L. K. (1980)
Biochem. Pharmacol., 29, 475

192 - SCHALLY A. V., ARIMURA A., BABA Y., NAIR R. M. G., MATSUO H., REDDING T. W., DEBELJUK L., WHITE W. F. (1971)
Biochem. Biophys. Res. Commun., 43, 393

193 - SCHULZ R., WUSTER M., HERZ A. (1977 a)
Life Sci., 21, 105

194 - SCHULZ R., WUSTER M., SIMANTOV R., SNYDER S. H., HERZ A. (1977 b)
Eur. J. Pharmacol., 41, 347

195 - SHAAR C. J., FREDERICKSON R. C. A., DININGER N. B., CLOMENS J. A., HULL R. H. (1977)
Fedn. Proc., 36, 311

196 - SHANNON H. E., HOLTZMAN S. G. (1976)
Eur. J. Pharmacol., 39

197 - SILBIGER M. L., DONNER M. W. (1968)
Radiology, 90, 1086

198 - SILMAN R. E., HOLLAND D., CHARD T., LOWRY P. J., HOPE J., ROBINSON J. S., THORBURN G. D. (1978)
Nature, 276, 526

199 - SIMANTOV R. (1979)
Nature, 280, 684

200 - SIMANTOV R., SNYDER S. H. (1976)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73, 2515

201 - SIMANTOV R., KUHAR M., UHL G., SNYDER S. H. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 2167

202 SIMON E. J., HILLER J. M., EDELMAN I. (1973)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 70, 1947

203 - SMITH T. W., HUGUES J., KOSTERLITZ H. W., SASA R. P. (1976)
in "Opiates and Endogenous Opioïd Peptides"
(H. W. Kosterlitz ed.) Elsevier/North Holland Publ.,
Amsterdam, p 57 - 62

204 - STERN A. S., LEWIS R., KIMURA S., ROSSIER J., GERBER L. D., BRINK L. STEIN S., UDENFRIEND S. (1979)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 6680

205 - STUBB W. A., JONES A., EDWARDS C. R. W., DELITALA G., JEFFCOATE W. J., RATTER S. J., BOSSER G. M., BLOOM S. R., ALBERTI K. G. M. (1978)
The Lancet, 4, 1225

206 - SUDA T., LIOTTA A. S., KRIEGER D. (1978)
Science, 202, 221

207 - TAKAGI H., DOI T., AKAIKI A. (1976)
in "Opiates and Endogenous Opioïd Peptides"
voir SMITH et al (1976)

208 - TANNENBAUM G. S., PANERAI A., FRIESEN H. G. (1979)
Life Sci., 25, 1983

209 - TERENIUS L. (1973)
Acta Pharmacol. (KBH), 33, 377

210 - TERENIUS L., WAHLSTRÖM A. (1975)
Life Science, 16, 1759

211 - UHL G., KUHAR J. M., SNYDER S. H. (1978)
Brain Res., 149, 223

212 - UHL G., GOODMAN R., KUHAR M., CHILDERS S. R., SNYDER S. H. (1979)
Brain Res., 166, 75

213 - VALETTE A., PONTONNIER G., CROS J. (1979)
Febs. Letters, 103, 362

214 - VON GRAFFENRIED B., DEL POZO E., ROUBICEK J., KREBS E., PÖLDINGER W., BURMEISTER P., KERP L. (1978)
Nature, 272, 729

215 - VOGT M. (1974)
J. Physiol., 236, 483

216 - WATERFIELD A., KOSTERLITZ H. W. (1974)
"Proc. 4th Symp. Gastrointestinal Motility" Mitchell, Vancouver, p 659 - 666

217 - WATERFIELD A., SNOCKUM R. N. F., HUGUES J., KOSTERLITZ H. W., HENDERSON G. (1977)
Eur. J. Pharmacol., 43, 107

218 - WATSON S. J., BARCHAS J. D., LI C. H. (1977 a)
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74, 5155

219 - WATSON S. F., AKIC H., SULLIVAN S., BARCHAS J. D. (1977 b)
Life Sci., 21, 733

220 - WEBER E., MARTIN R., VOIGT K. H. (1979)
Life Sci., 25, 1111

221 - WEI E. (1973)
Psychopharmacologia (Berlin), 28, 35

222 - YALOW R. S., BERSON S. A. (1973)
J. Clin. Endocrinol. Metab., 36, 415

223 - YAKSH T. L., RUDY T. A. (1976)
Science, 192, 1357

224 - YAKSH T. L., YEUNG J. C., RUDY T. A. (1976)
Brain Res., 114, 83

225 - AUDIGIER Y., MAZARGUIL H., GOUT R., CROS J. (1980)
Eur. J. Pharmacol., 63, 35-46

Imp. COREP ASSISTANCE
21, rue Viguerie
31300 TOULOUSE
Tél. : 42 01 19